

**UNIVERSIDAD DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

**El riñón y la regulación de la glicemia**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**José Souto Candeira**

**Madrid, 2015**

Rh. 50.355

**José M. Scuto Candela**

**EL RIÑON Y LA REGULACION DE LA GLICEMIA**

**Tesis que para optar al grado de Doctor en  
Medicina, presenta D. José M. Scuto Cande-  
ra.**

**Madrid, Abril de 1949**



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5315014041

**CERTIFICO** que esta Tesis Doctoral, titulada "El riñón y la regulación de la glicemia", ha sido hecha en el Instituto de Investigaciones Médicas, Universidad Central, bajo mi dirección.

**Firmado: Carlos Jiménez Díaz**

**Al Pastor Sinto Deus**

**In memoriam.**

## I N D I C E

INTRODUCCION .....	Pág. 1
--------------------	--------

### PRIMERA PARTE

#### ORGANOS QUE INTERVIENEN PRINCIPALMENTE EN EL METABOLISMO HIDROCARBONADO:

<u>Hígado y músculo</u> .....	" 5
Glicogénesis y glicogenolisis en el hígado y en el músculo .....	" 8
Neoglicogénesis .....	" 16
Neoglicogénesis a partir de las pro- teínas .....	" 18
Neoglicogénesis de los lípidos .....	" 27
Utilización del azúcar sanguíneo ....	" 35
El hígado en la regulación de la gli- cemia .....	" 39
<u>Papel del páncreas en el metabolismo de los hidratos de carbono</u> .....	" 43
<u>Papel de la hipófisis</u> .....	" 54
<u>Papel de la corteza suprarrenal y de la hor- mona corticotropa de la hipófisis</u> .....	" 63
<u>Papel de la médula suprarrenal</u> .....	" 72
<u>El tiroides</u> .....	" 77

## SEGUNDA PARTE

**EL RIÑÓN Y LA REGULACIÓN DE LA GLICEMIA ..... Pág. 82**

**Parte experimental: Técnicas ..... " 83**

### **Resultados:**

**Efecto de la exclusión y de la extirpación de los riñones ..... " 86**

**Diferencias arterio-venosas en el riñón " 96**

**Efecto de la administración de glicosa sobre las diferencias arterio-venosas en el riñón ..... " 98**

**Efecto de la hipoglicemia insulínica sobre las diferencias arterio-venosas en el riñón ..... " 103**

**Efecto de la nefrectomía sobre la hiperglicemia provocada ..... " 106**

**Efecto de la nefrectomía sobre la hipoglicemia insulínica ..... " 109**

**Variaciones glicémicas y reacción a la insulina en perros nefrectomizados ..... " 113**

**Comparación de los efectos de la ligadura de uréteres y de la nefrectomía ..... " 132**

Efecto protector por extractos renales ..	Pág. 139
DISCUSION Y COMENTARIOS .....	" 154
CONCLUSIONES .....	" 165
BIBLIOGRAFIA .....	" 169

-----

Permitaseme dirigir mi saludo a este Ilustre Tribunal,  
que representa a la Facultad de Medicina de Madrid en donde  
he cursado mis estudios.

Quiero consignar mi reconocimiento al Prof. D.Carlos  
Jiménez Díaz, por su dirección y ayuda durante estos últimos  
años, y también a todo el Instituto de Investigaciones Médicas  
por su eficaz colaboración.



La función del riñón como órgano que interviene en el metabolismo de los hidratos de carbono, ha sido hasta ahora poco estudiada. El gran esfuerzo dedicado a aclarar el papel de diferentes órganos en el metabolismo de los glúcidos, ha sido, sin duda, de mucha menos intensidad por lo que al riñón se refiere. Sin embargo, a partir de ciertos hechos parecían indicadas nuevas investigaciones, en la creencia de que éstas pudieran aportar datos de interés para un mejor conocimiento del problema. Estos hechos a que nos referimos son: En el animal eviscerado y sin riñones, las necesidades de azúcar son mucho mayores que en el eviscerado que conserva sus riñones (BERGMAN y DRURY, 1 - RUSSELL, 2- REINECKE, 3); esto parece indicar que el riñón, en ausencia de otros órganos, es capaz de mantener durante algún tiempo un nivel glicémico que no subsiste si los riñones son extirpados; de aquí sugieren RUSSELL y REINECKE, que en el riñón tiene lugar una gliconeogénesis que al faltar el hígado contribuye al mantenimiento del nivel glicémico normal

Los estudios de SHIPLEY (4), parecen confirmar esta suposición al demostrar que cortes de riñón incubados en suero, muestran una mayor formación de glicosa que cortes de hígado en las mismas condiciones. ROBERTS y SAMUELS (5), observan que en ratas evisceradas y en ayunas desde uno o dos días antes, el riñón libera glicosa, pero que ni en el animal intacto ni en el eviscerado que no está en ayuno, esta liberación de glicosa no tiene lugar. RUSSELL considera que la neoglicogénesis en el riñón es un proceso normal, y que el azucar en este caso no procede de aminoácidos, sino de otros orígenes cuyo punto de partida podría ser ácido láctico. En los estudios sobre la diabetes aloxánica, pudo apreciarse por GRANDE, JIMENEZ DIAZ y OYA (6), que la misma dosis de aloxana da lugar a una diabetes mas grave en el perro cuyos riñones han sido extirpados, que en el intacto. El hecho de que no apareciese diabetes en perros con los pedículos renales ligados, a los que se habían administrado dosis diabetógenas de aloxana, indujo primeramente a JIMENEZ DIAZ, GRANDE y OYA (7) a la consideración de que el tóxico actuaba sobre

una función del riñón, fundamental para el mecanismo del metabolismo hidrocarbonado. Trabajos posteriores de los mismos autores, les han permitido, sin embargo, llegar a la conclusión de que la aloxana lesiona gravemente el riñón y que la intensidad de la diabetes por ella producida, es paralela a la gravedad de las lesiones renales halladas en la autopsia.

A continuación trataremos de resumir los conocimientos actuales acerca de los órganos que intervienen principalmente en el recambio hidrocarbonado; se trata de señalar únicamente, los hechos fundamentales para mas adelante estudiar la participación del riñón en el metabolismo de los glicidos.

**PRIMERA PARTE**

---

**ORGANOS QUE INTERVIENEN FUNDAMENTALMENTE EN EL**  
**RECAMBIO HIDROCARBONADO.-**

### HIGADO Y MUSCULO

Ha pasado un siglo desde que CLAUDIO BERNARD demuestra la existencia de glicógeno en el hígado y la función fundamental de este como órgano que suministra azúcar a la sangre (8,9,10). Sus conceptos son esencialmente los que hoy mantenemos: El azúcar se produce en el hígado y se destruye a través de todo el organismo -incluso una pequeña cantidad en el hígado mismo- y principalmente en los músculos. El nivel de azúcar normal, es el resultado de un equilibrio preciso entre el proceso de anabolismo (asimilación) y catabolismo (desasimilación).

Para un conocimiento mas preciso de las funciones del hígado, fué necesario aguardar a que se pudiese llevar a efecto su extirpación total en los mamíferos vivos y su observación ulterior. MANN fué quien primero logró /supervivencias/ en perros hepatectomizados (11). Consigue esto con una operación en tres tiempos; en el primero la sangre de la vena cava inferior, se hace pasar a la vena porta, fistula de RCK invertida; en el segundo tiempo, se procede a la ligadura de la vena porta por

encima de la pancreático duodenal y por debajo de su bifurcación; en el último tiempo se procede a la extirpación del hígado, ligando después los elementos gastrohepáticos de la vena porta, la vena cava inferior por debajo del hígado y la cava inferior en su porción diafragmática. Esta técnica, en tres tiempos, aplicable solamente a perros, es modificada primero por MARKOWITZ y SOSKIN (12) con la operación en dos tiempos, ligadura parcial de las venas porta y cava y extirpación del hígado - que permite la operación en perros, gatos, monos, cobayas y conejos-. MARKOWITZ, YATER y BURROWS (13) hacen la hepatectomía en un solo tiempo en el perro, colocando una cánula de vidrio en la vena cava inferior, para que la sangre pase a la vena cava superior y haciendo a continuación una fístula de ECK. MINOR y STINSON logran la hepatectomía en un solo tiempo, colocando cánulas de vidrio Pyrex en las venas situadas por encima y por debajo del hígado, manteniendo así la circulación venosa del corazón (14); esta última operación es aplicable al perro y a algunas otras especies animales.

La extirpación total del hígado, permitió confirmar que este órgano es el factor principal en el mantenimiento de la glicemia normal. En efecto, en los perros hepatectomizados la glicemia desciende rápidamente y el glicógeno de los músculos no puede convertirse en glucosa con rapidez suficiente para intervenir eficazmente en la regulación del azúcar sanguíneo (DOLLMAN, MANN y MAGATH, 15). Análogamente, en sapos y en perros hepatectomizados, la hipoglicemia es apenas modificada por agentes normalmente hiperglicémicos, como el éter anestésico, adrenalina y extractos de lóbulo anterior de hipófisis (16,17,18,19).

También el hígado en circunstancias especiales, es capaz de formar glicógeno a expensas de ácido láctico, utilizando así esta última sustancia como formadora de azúcar sanguíneo. Sucede esto en el llamado "ciclo del ácido láctico" estudiado por GEIGER, CORI y HENWICH (20,21, 22,23 y 24): cuando en el músculo existe una deficiencia en el aporte de oxígeno o por la acción de la adrenalina, pueden acumularse en él, importantes cantidades de ácido láctico; éste pasa a la sangre y de

aquí al hígado donde es convertido en glicógeno para pasar nuevamente a la sangre como glicosa.

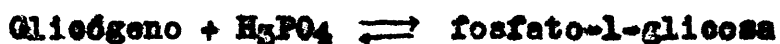
GLICOGENESIS Y GLICOGENOLISIS EN EL HIGADO Y EN EL MUSCULO.- La síntesis de glicógeno y la formación de glicosa en el hígado, son mecanismos enzimáticos cuyo conocimiento es todavía reciente. Por destrucción enzimática del glicógeno se forma glicosa en el hígado, mientras que en el músculo, da lugar a la formación de ácido láctico. A pesar de que los productos finales sean diferentes, las etapas iniciales de la degradación del glicógeno son las mismas en el hígado que en el músculo y que en otros tejidos, y sus reacciones enzimáticas reversibles.

La primera fase de la degradación del glicógeno es un proceso de fosforolisis. Cuando los extractos de hígado y de otros tejidos perfundidos con Ringer, son sometidos a diálisis, quedan desprovistos casi totalmente de actividad diastásica. Pero si se les añade glicógeno, un fosfato inorgánico y pequeñas cantidades de ácido adenílico, tiene lugar una rápida destrucción del glicógeno si el extracto no contiene fosfato,



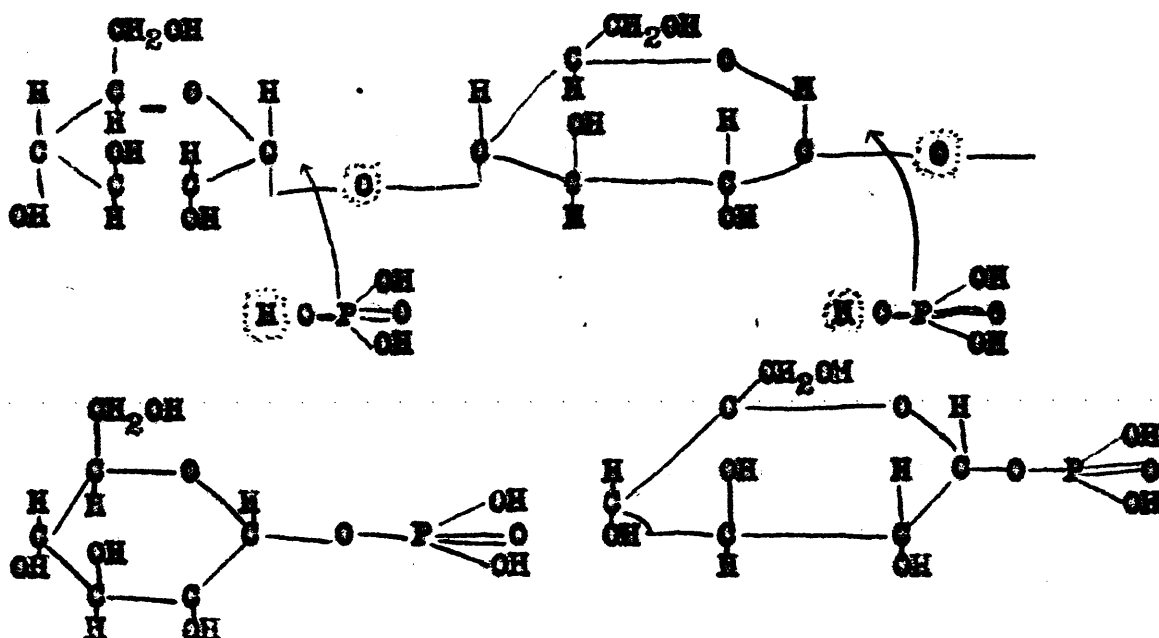
ni ácido adenílico, la destrucción de glucógeno no se efectúa. (25).- El enzima que actúa en estas condiciones ha sido denominado por GORI, fosforilasa. Actúa en condiciones anaeróbicas y el ácido adenílico (ácido adenín-ribosa-5 fosfórico) funciona como coenzima, pudiendo ser separado por electrodiálisis, resultando en este caso extractos inactivos, que pueden volver a recobrar su acción enzimática por adición de ácido adenílico 0,0001 M. (26). El enzima es inhibido por la floridzina y la fleretina (27).

La fosforilasa mejor estudiada es la 1:4 glucógeno-fosforilasa (28, 29) que cataliza la siguiente reacción reversible



El ácido fosfórico rompe el enlace glucosídico -C-O-C- y se fija como  $\text{H}_2\text{PO}_4$  sobre el átomo de carbono 1 de una molécula de glucosa, en tanto el H restante se une al átomo de carbono 4 de la molécula de glucosa inmediata. Análogamente parece que <sup>una</sup> como 1:6 glucógeno-fosforilasa actúa sobre el enlace 1:6 (30)

La reacción hacia la derecha, consume fosfato inorgánico, mientras que hacia la izquierda produce liberación del mismo.



Que transcurra en uno u otro sentido, depende de las circunstancias relativas de fosfato inorgánico y de fosfato-1-glicosado. El equilibrio es alcanzado cuando la cantidad de fosfato que se ha esterificado es, aproximadamente, una quinta parte del fosfato inorgánico presente.

Formado el ester fosfato-1-glicosa (ester de G6PI) actúa sobre él, un enzima proteico, que se encuentra en los extractos de tejidos y que recibe el nombre de fosfoglicomutasa, (31,32) y que cataliza la siguiente reacción:



Es decir, que el grupo fosfato es transferido, por la acción de este enzima, del átomo de carbono 1 al 6. Esta transferencia ha sido probada por experimentos con fósforo radioactivo por MEYERHOFF y colaboradores (33).- La reacción es acelerada por la adición de iones magnesio, (32) manganeso y cobalto (34).

Sobre la molécula de fosfato-6-glicosa, actúa ahora otro enzima, que se encuentra en los extractos de tejidos y que ha sido llamado por LOHMANN isomerasa (35) y que totaliza la reacción.



La reacción es también reversible y el equilibrio se alcanza cuando existe un 80 % de ester de glicosa y un 20% de ester de fructosa (36).

La desaparición de glicógeno y la formación de ester monofosfato de hexosa -aislado por ROBINSON- contiene un equilibrio ester de glicosa y ester de fructosa en las proporciones antes indicadas, -se corresponden muy estrechamente en los extractos de músculo, cerebro y corazón.

En el hígado, sin embargo, desaparece mucho más glicógeno que monofosfato de hexosa es acumulado. Este se debe a que el hígado contiene una fosfatasa que actúa sobre el monofosfato de hexosa, desdoblándolo en glicosa y fosfato inorgánico. Cuando se añade fructosa a cortes de hígado, suspendidos en una solución oxigenada de Ringer, tiene lugar una rápida conversión en glicosa, que no se produce en condiciones anaeróbicas (37). Si se añade a cortes de hígado, fosfato-6-fructosa, este es desdoblado en glicosa y fosfato inorgánico. Para transformarse en glicosa, la fructosa es primeramente fosforilada, probablemente sobre el carbón 6, etapa que requiere energía oxidativa. GORDA (38) observa lo mismo en cortes de hígado y de riñón, en los que la desaparición de fructosa es inhibida por floridyna en concentraciones que ejercen

escaso efecto sobre la respiración. KALOKAR demuestra también, que esta etapa inicial de fosforilización requiere la presencia de oxígeno.

La formación de ester monofosfato de hexosa, ha sido bien estudiada en el músculo por EGGLETON (39) DAVENPORT y SOCKS (40), LOHMANN y CORI (41,42,43,44,45 y 46). Si el músculo es estimulado por una buena contracción tetánica, mas del 50 % del glicógeno desaparecido, es hallado como monofosfato de hexosa (44,46), en tanto que el resto se ha convertido casi todo en ácido láctico, existiendo pequeñas cantidades de glicosa (47) y de ácido <sup>/pirúvico/</sup> ~~lático~~, (48). La participación de fosfo-creatina en la formación de monofosfato de hexosa, sospechada en principio, fué más tarde totalmente descartada al observar que el ester se forme tanto en extractos de músculo, como de otros tejidos, que no contienen fosfocreatina. La destrucción de fosfocreatina durante la contracción muscular vá unida a la refosforilización del ácido adenilico que se forma al transferir el adenosintrifosfato, seis grupos fosfato

a la molécula de fosfato-6-fructosa, para formar difosfato de 1-6-fructosa (ester de HARDEN y YOUNG).

Como resultado de todas las investigaciones indicadas, ha podido establecerse, que en el músculo, el monofosfato de hexosa, se forma por esterificación del glicógeno con fosfato inorgánico. Entre uno y otro, glicógeno y ésteres de glicosa y fructosa en equilibrio, existe un compuesto intermedio, el fosfato-1- $\alpha$ -glicosa, aislado primeramente del músculo de rana (49) y sintetizado poco más tarde (50).

La formación de ester difosfato de hexosa a partir de adenosintrifosfato y ester monofosfato de hexosa, fué observada por PARNAS y BARANOWSKI (51) y por OSTERN, GUTHKE y TERZAKOWEC (52,53). Se sabe que en esta reacción, catalizada por una fosforilasa, actúa como coenzyma el ácido adenílico (26,54,55,56 y 57, 58 y 59).

Los primeros productos de la fosforilización de la glicosa y de la fructosa, no han sido aislados. El primero de los compuestos deriva-

dos del glicógeno en el que se sabe que tiene lugar una oxidación, es el ester fosfato de hexosa. Sobre él actúa un sistema enzimático descubierto por WARBURG y CHRISTIAN (60) y estudiado por otros autores (61,62,63,64). En tanto que ha sido demostrada la formación de glicógeno del fosfato-6-glucosa en el músculo intacto en presencia de oxígeno, (65) en los extractos de tejidos esta transformación no ha podido todavía obtenerse. El fosfato-6-glucosa, es oxidado a fosfato-6-ácido glicónico por una deshidrogenasa específica, actuando como coenzyma <sup>/funcionando/</sup> trifosfopiridinucleótido. Por sucesivas deshidrogenasas, ~~fraccionando~~ siempre como coenzyma el mismo trifosfopiridinucleótido, tienen lugar una serie de degradaciones oxidativas de la molécula de ácido glicónico.

En el músculo intacto el ester monofosfato de hexosa, -ester en equilibrio-, es aeróbicamente oxidado parcialmente y convertido en glicógeno, en tanto que en condiciones anaeróbicas es transformado en ácido láctico (65). La formación de fructosa del ester monofosfato de hexosa, a difosfato-1-6-fructosa, es la reacción que limita la for-

nación de ácido láctico en el músculo intacto.

La síntesis de polisacáridos con fosforilasa, ha sido demostrada con enzima preparado a partir de hígado, por CORI, (56) y de músculo de mamífero (57), de corazón y de cerebro (56).

#### NEOGLICÓGENESIS.-

Hemos reseñado muy brevemente las transformaciones enzimáticas que dan lugar a la formación del azúcar sanguíneo a través de la formación y destrucción del glicógeno en el hígado y en el músculo. Los hidratos de carbono que penetran en la sangre en forma de glicosa, proceden, en parte, de los glicidos ingeridos con los alimentos. Pero otra parte considerable, procede de otros principios inmediatos distintos de los glicidos.

La utilización de los hidratos de carbono por los tejidos periféricos, ha permitido en experimentos de balance, llegar a la conclusión de que el contenido total en hidratos de carbono del animal en ayunas, es -



minuiria rápidamente y estaría completamente agotado en menos de un día, de no estar formándose constantemente en el hígado azúcar a expensas de materiales no hidrocarbonados (MAN, 67; YATER ROSENTHAL, 68; MARKOWITZ y CAHOON, 69; SOSKIN y LEVINE, 70; SOSKIN, LEVINE y TAUBENHAUS, 71; SOSKIN, 72)

n/ El principal medio de que disponemos para el estudio de los principios inmediatos capaces de ser transformados en azúcar, es proporcionado por animales a los que se ha provocado diabetes. El organismo con una diabetes total, está constantemente excretando glicosa por la orina. Si se le introducen hidrocarbonados por boca o intramuscularmente, pueden recobrase en la orina en forma de glicosa, aproximadamente en la mismas cantidades en que han sido administrados. Si en lugar de glúcidos se introducen en el organismo totalmente diabético, proteínas, por ejemplo, también se excreta glicosa por la orina aunque en cantidades menores que las equivalentes de azúcar. Esto nos da una medida de la extensión en que una sustancia dada, es convertida en azúcar por el organismo (73, 74).

ARTIR DE

Tenemos varios tipos de prae-

s que nos permiten afirmar la procedencia del azúcar a partir de las proteínas. Estas son las que se derivan del estudio del cociente  $D:N$ , <sup>/privos/</sup> extra glicosa excretada por animales pancreo~~privos~~ tras la ingestión de aminoácidos, el aumento que <sup>↑</sup>tiene lugar en el contenido de glicógeno en el hígado a continuación de la ingestión de aminoácidos en el animal hambriento y los resultados obtenidos en los experimentos de perfusión. En los años siguientes a la provocación de la diabetes experimental por extirpación del páncreas, pudo observarse ya por MINIKOWSKI que en la orina de perros pancreoprivos, alimentados con carne o hambrientos, las cantidades de glicosa y de <sup>V</sup>nitrógeno excretado en 24 horas, parecen guardar entre sí una relación muy estrecha (75-). La media obtenida por MINIKOWSKI en sus diferentes perros fue 2'8:1.- De sus observaciones, deduce el autor que puesto que el nitrógeno procede de las proteínas, todo el azúcar que aparece en la orina se ha formado a expensas de aquellas proteínas, que la constancia del cociente  $D:N$ , parece indicar que el azúcar formado por las proteínas, no es utilizado por el animal diabético y por consiguiente

es cuantitativamente excretado.

En la época de MINAOWSKI, anterior al descubrimiento de la insulina, era difícil la interpretación del cociente D:N en cada perro, en días sucesivos. Los datos de MINKOWSKI no aparecen completos, sino que son coleccionados durante 51 días en 9 perros pancreatectomizados. Los valores altos obtenidos en el cociente D:N durante los primeros días, fueron desechados, porque ellos representarían la suelta del almacenamiento de glicógeno preformado. Los bajos valores del cociente D:N al final de los experimentos, tampoco fueron tenidos en cuenta por el mal estado en que se encontraban los animales. Por estas y por <sup>/mismas razones/</sup> suponer que en sus animales la pancreatoma había sido incompleta, no se dió valor a los resultados obtenidos por BERGMAN y SALOMON (76) y por PELÜGER, los cuales no obtienen el mismo orden de cifras para los cocientes D:N que el fisiólogo de Strasburgo.

Ya en la época de la insulina, MACLEOD y MARKOWITZ (77) y CHAIKOFF (78), en perros con pancreatoma total, comprobada mas tarde en autopsias,

ien mantenidos por una dieta adecuada y con insulina, observan cocientes D:N por debajo de 2'8:1 pasados los primeros días de la experiencia.

SKIN (79,80,81) hace un estudio crítico de los resultados obtenidos con el cociente D:N y comprueba experimentalmente en 10 perros pancreo-  
s, mantenidos con una dieta proteica baja en calorías, tratados con  
ins, sin heridas infectadas y buen estado general, las variaciones  
del cociente D:N durante 138 días, que contrariamente a los de MINKOWSKI  
han sido seleccionados. Las conclusiones de SKIN, son que, aunque  
algunos cocientes D:N son similares a los de MINKOWSKI, en general la  
relación tiende a ser alta al comienzo de cada experimento, para decrecer  
progresivamente a medida que el animal pierde peso y agota sus reservas  
de tejido adiposo; estas diferencias, explican las encontradas por los  
distintos autores.

Si la interpretación de MINKOWSKI es cierta, el descenso del cociente  
D:N, indicaría que cada vez se formarían mayores cantidades de azúcar.

de las proteínas y que cantidades cada vez mayores de azúcar, son utilizadas . Si además, los bajos valores obtenidos en los días finales de cada experimento, representan la medida de la neoglicogénesis a partir de las proteínas, es necesario admitir que los valores más altos representan una neoglicogénesis de algo más que las proteínas, es decir, que el azúcar se ha formado a partir de aquéllos, <sup>/no solamente/</sup> sino también de ácidos grasos. Los resultados obtenidos en perros con diabetes floriáznica, dieron en un principio, cocientes D:H de 3'65:1 (74,82,83) debidos al uso de floriázina impura, pero cuando el producto fué utilizado químicamente puro, pudo observarse, que como en el caso de la diabetes pancreática, los cocientes D:H son altos en los primeros días para descender, hasta adquirir valores bajos en los días finales de cada experimento. Los valores del cociente D:H en perros floriáznizados, no indican ni un déficit en la utilización de azúcar, ni que el azúcar formado lo sea solamente a expensas de las proteínas.

~~Exponenencia~~ Hay que tener en cuenta que estos animales tienen el inconveniente sobre los pancreateoprivos, de una mayor excreción de azúcar.

En resumen, podemos decir de los datos aportados por el estudio de los cocientes D:N en perros diabéticos, tanto en los pancreateoprivos como en los floridzinizados, que se forma azúcar a expensas de las proteínas, pero estos datos no permiten conocer en que medida esta neoglicogénesis, tiene lugar.

Datos más precisos son los que nos suministran los estudios de incubación de tejidos, los de perfusión de órganos, y los de alimentación de animales diabéticos con aminoácidos individuales, para medir la cantidad de azúcar formada. En estas experiencias debemos tener en cuenta la formación a partir de aminoácidos de beta-ceto-ácidos, ya que es necesario conceder la posibilidad de que estas últimas sustancias, sean convertidas en azúcares.

En un tipo de experimentos, los cortes de hígado u otros teji-

dos son incubados con diferentes aminoácidos. A continuación se mide el total de hidratos de carbono, cuerpos cetónicos y los metabólicos intermediarios en la formación de los glicidos. La identificación de estos últimos, puede lograrse por el uso de enzimas preparados de tejidos animales.

Las experiencias con animales, han sido efectuadas de dos maneras. Una de ellas consiste en alimentar a perros normales hambrientos, con aminoácidos y expresar el aumento de glicógeno del hígado, como medida de la gliconeogénesis. En otro tipo de experiencias, el aumento de la glicosa urinaria en perro diabéticos pancreoprivos o florizidnicos, alimentados con aminoácidos, expresa en relación a la glicosuria anterior a la ingestión de aminoácidos, la medida de la gliconeogénesis.

El aumento de glicosa o cuerpos cetónicos en la sangre procedente de la perfusión del hígado, a la que previamente se han añadido aminoácidos, nos demuestra la transformación de estos en azúcar.

Estas experiencias, en las que se miden el aumento de glicógeno hepático y la excreción glicosa <sup>urinary</sup> ~~hepatic~~ como expresión de la formación de hidratos de carbono, han sido severamente criticados en cuanto a su valor cuantitativo, por razones semejantes a las objeciones hechas a las conclusiones obtenidas de los cocientes D:H, como medida de la gliconeogénesis. (72). Los experimentos de incubación y los de perfusión, nos proporcionan, por el contrario, datos cuantitativos. Hasta ahora existen solamente en la literatura, información de la transformación cuantitativa de alanina, (84,85), ácido aspártico (85), ácido glutámico (86), benzina (87,88), lisina (72) y triptófano (72). De estos seis aminoácidos, solo de los tres primeros conocemos el mecanismo y proporciones de transformación en glicidos. La benzina, lisina y triptófano, no forman hidratos de carbono. Las experiencias "in vivo" parecen indicar que son transformados en hidratos de carbono, sin que podamos conocer la cuantía de la gliconeogénesis, <sup>de</sup> la serina (74,89 y 90,), ornitina (91), cisteína (92), pro-



ína (88,93) oxiprobína (88,93). La administración de probína a perros floridzinizados, provoca un aumento de la extra excreción de azúcar; la incubación de oxiprobína, en cambio, con cortes de hígado, conduce a la formación de cetonas (EMSON).

Para otros aminoácidos, existen en la literatura datos contradictorios respecto a su capacidad gliconeogénica, sin que podamos aceptar, por tanto, hasta obtener pruebas más satisfactorias, su participación en la formación de azúcares. Así en perros floridzinizados a los que administra valina, BAKIN (91) no puede demostrar excreción derivada de extra-glicosa; BUTTS (94) y colaboradores, obtienen en la rata normal, datos contradictorios y ROSE y colaboradores (97), encuentran extra-glicosa en la orina de perros floridzinizados, tras administración de valina.

El estudio de la glicocola como aminoácido glicogénico, nos permite llegar con ULSEN a la conclusión de que las pruebas "in vivo" e "in vitro" de conversión de aminoácidos en glicosa, deben ser compro-

bedas usando aminoácidos marcados con isotopos radioactivos. Habrían obtenido excreción de extraglicosa urinaria en perros floridzinizados y en ratas normales, RINGER y LUSK (96) BUTTS y colaboradores (89) y MACKAY y otros (97); por el contrario, en las mismas condiciones, obtienen resultados negativos PFLUEGER y JUNKERSDORF (98), WILSON y LEWIS (99).- BACH (100, 101) en experimentos de incubación, observan que ni los cortes de hígado ni los de riñón, son capaces de producir desaminación de la glicocola. OLSEN, HEMINGWAY y NIER, alimentan a ratas con glicocola isotópica y observan aumento del glicógeno hepático, pero este glicógeno no deriva de la glicocola administrada (102). No basta, pues, para poder afirmar que un aminoácido sea glicogénico, que tras su administración, aumenten el glicógeno hepático o la extraglicosa urinaria. Solamente en el caso de que pueda demostrarse que la glicosa o el glicógeno formado, lo ha sido con los átomos que integran la estructura del aminoácido, podemos decir que este es glicogénico.

**NEOGLICOGENESIS DE LOS LIPIDOS,-** Los datos aportados por el estudio del cociente **DYN**, indican que en el animal diabético, el azúcar es parcialmente utilizado. Si esto es así, la destrucción de las proteínas no puede suministrar el azúcar que es excretado, mas el que el organismo utiliza. Es necesario admitir que el hígado también forma azúcar a expensas de los ácidos grasos.

En experimentos de balance en ratas y conejos, calcula **COMI** (23) la cantidad de azúcar que el hígado necesita segregar para dar lugar a la hiperglicemia producida por la adrenalina. Por la acción de este fármaco, se produce un descenso del glicógeno de los músculos; este es transformado en ácido láctico, que en el hígado vuelve a ser resintetizado a glicógeno. Pero en este ciclo del ácido láctico, la hiperglicemia adrenalinica es mayor que la que es posible explicar por este mecanismo. Puesto que **SOSKIN** y colaboradores (103,104) y **HIMSWORTH** y **SCOTT** (105) demuestran que la adrenalina no produce disminución alguna en la utilización de azúcar por los tejidos periféricos, debemos considerar que la hiperglicemia adrenalinica indica

una gliconeogénesis en el hígado, a partir de las grasas.

De las <sup>calculos</sup> ~~calculos~~ de YOUNG (106, 107 ) sobre la utilización de azúcar por tejidos distintos del hígado, en perros normales y pancreo-privos, se deduce que debe admitirse la ~~existencia~~ <sup>resistencia</sup> de azúcar formado en el hígado, a partir de los ácidos grasos.

Se han invocado para la demostración indirecta de la formación de hidratos de carbono, de las grasas, <sup>/el/</sup> estudio del cociente D:N, del cociente respiratorio y de la cetosis.

Para los que no admiten la utilización de hidratos de carbono por el organismo diabético, los datos suministrados por el cociente D:N de animales a los que se ha producido diabetes experimental, y a los que se les administre grasa, no indican, necesariamente, la existencia de una gliconeogénesis a partir de los ácidos grasos (74). En las condiciones experimentales a que están sometidos los animales diabéticos, en los que se quiere determinar la excreción de extra azúcar, (con diabetes aguda y cetosis, sin insulina), la administración

de grasa los pone <sup>aun</sup> ~~cuyo~~ en peor estado. En algunos casos, sin embargo, ha podido ser demostrada, por los datos del cociente D:N, la excreción de extra azúcar en animales a los que se les administra grasa<sup>n</sup>, pero muchas veces mueren rápidamente (110). Datos de los que por el cociente D:N puede juzgarse de la existencia de gliconeogénesis a partir de las grasas, han sido dados por diversos autores (108, 109, 110, 111, 112, 113). Otros, en cambio, (RAPPORT, BOLLMAN, MANN y WILHELMS, KAPELLER-ADLER y RUBINSTEIN) niegan que por los cálculos del cociente D:N, pueda deducirse una gliconeogénesis de las grasas (74, 114, 115).

El cociente respiratorio (C.R.) es un dato cuya interpretación tampoco nos aporta pruebas específicas de la conversión de grasas en hidratos de carbono. En efecto, no podemos interpretar los C.R. no proteicos de alrededor de 0,7 obtenidos en los animales con azúcar y en los diabéticos, como indicio de que sea únicamente su grasa la que está sufriendo excreciones, sino que sabemos que al mismo tiempo existen otras transformaciones que requieren oxígeno y produ-

cen anhídrido carbónico. Tal, por ejemplo, el C.R. del cerebro de, aproximadamente, 1'0 y cuya energía se deriva exclusivamente de los hidratos de carbono (116,117,118,119 y 120). El C.R. teórico para la conversión de grasas en hidrocarbonados, es de alrededor de 0,28(121); para la cetogénesis a partir de las grasas, de 0,65 a 0,00 según el número de moléculas de ácido beta-hidroxibutírico que proceden de una molécula de ácido graso; el C.R. para la conversión de proteínas en hidratos de carbono, oscila alrededor de 0,74(122,123,124,125). WERTHESEN (126), estudia el C.R. en ratas que consumen toda su dieta de 24 horas, entre 1 y 5 horas, y encuentra que el C.R., medido a continuación, varía entre valores muy altos y muy bajos. Es decir, que el C.R. está constituido por una serie de etapas entre las que están la transformación de grasas en hidratos de carbono.

Generalmente se interpretan los C.R. por encima de 1'0, suponiendo la conversión de hidratos de carbono en grasas (127). Pero en todo caso, esto no sería sino un aspecto parcial entre los que dan por

resultado el valor 1'0. Por el contrario, valores para el C.R. por debajo de 0'7, pueden ser completamente normales. Primeramente se creyó que tales valores serían debidos a algún error de técnica, pero un estudio mas cuidadoso ha permitido a varios autores (128, 129), concluir que tales valores son normales. Actualmente PERERA, JIMENEZ DIAZ, ———— d muestran por medio del interferómetro, que tales valores por debajo de 0,7, son absolutamente normales en los perros y en los seres humanos (130).

Si se admite que el diabético, puede utilizar azúcar, el C.R. de 0,7 encontrado en estos casos, aparte de otros factores, depende de: a) un componente de valores altos debido a la oxidación de los hidratos de carbono y cuerpos cetónicos por los músculos y b), componente de valores bajos debido a gliconeogénesis y cetogénesis en el hígado. Que la formación de hidratos de carbono de las grasas, y la cetogénesis, hace descender el C.R. ha sido demostrado por diversos autores y no insistiremos aquí en ello. (79,131,132).

Por último la cetosis de los diabéticos, debe ser interpretada como consecuencia de la acumulación de cuerpos cetónicos formados en el hígado como consecuencia de la gliconeogénesis de grasas y de aminoácidos (79,124,125,133,134,135,136,137,138,139,140,141,142,143, 144), mas bien que como productos tóxicos resultantes de una oxidación incompleta de las grasas como creen algunos (145,146,147,148,149,150 y151).

Existen, además de todos estos datos, demostraciones directas de la gliconeogénesis a partir de las grasas en las que no es necesario tener en cuenta la utilización de los hidratos de carbono por los tejidos periféricos. La adición de ácidos butírico, <sup>beta</sup>~~iso~~-hidroxibutírico y alfa-beta-hidroxibutírico, en forma de sales sódicas, al tejido hepático de perros y de gatos, conduce a la formación de hexosas, previa formación de ácido láctico, según han demostrado HAARMANN y SCHRDEODER (152,153). El ácido butírico sufre una primera transformación en ácido acetoacético según han demostrado KOWITT y QUASTEL (154). GERMILL y HOLMES (155) encuentran que el C.R. de cortes



de hígado de ratas, desciende desde una media de 0,79, alimentadas con una dieta normal, a una de 0,58 cuando se las alimenta con mantequilla. BLIXENKONE-MØLLER (37), obtiene una media de valores para el C.R. de 0,57 en animales normales y de 0,37 en animales diabéticos. De acuerdo con este último autor, podemos afirmar que los bajos cocientes respiratorios en los hígados diabéticos, son consecuencia de tres factores: la desaturación de los ácidos grasos, la gliconeogénesis a partir de proteínas y de ácidos grasos, y la formación de cuerpos cetónicos. Una demostración más de la gliconeogénesis en órganos a partir de ácidos grasos, la tenemos en los trabajos de WEIL-MALHERBE (156), quien demuestra que cortes de riñón, transforman en azúcar el ácido acetoacético añadido.

Otro tipo de experiencias han sido efectuadas para demostrar la formación directa de hidratos de carbono a expensas de las grasas. Son las de perfusión de órganos aislados, principalmente de el hígado. Así BUEN y MARKS (157) perfunden hígados de gatos y perros pancreopri-

vos, con bajo contenido en glicógeno, que habían sido alimentados con grasa durante algún tiempo. Una gran producción de cuerpos cetónicos y de azúcar pudo ser apreciada en estas condiciones.

ELIXENKRONE-MÖLLER (158) perfunde hígados de gatos normales y ~~fluorid-~~<sup>fluoridz</sup>ínicos con butirato y con <sup>/succinato/</sup> sódicos, encontrando en el primer caso cocientes D:N de 10°0 a 20°0 y hasta de 42°0 en la perfusión con succinato. Según cálculos del autor, el 20 % del ácido butírico añadido, es convertido en cuerpos cetónicos y el restante en hidrocarburos, pasando por una etapa intermedia de ácido succínico. HELLER (159,160), estudia la producción de azúcar por el hígado "in situ" de gatos normales y fluoridzínicos; descontadas las cifras de grasas que pudieron proceder del glicógeno, ácido láctico y glicerina, obtiene para el cociente D:N, valores que oscilan entre 5°0 y 18°0.

Por último las experiencias que consisten en alimentar animales con ácidos grasos con átomos de carbono "<sup>marcados</sup> ~~encontrados~~", para encontrar estos mismos ~~en~~ átomos formando parte de moléculas hidrocarbonadas,

no dejan lugar a dudas respecto a la gliconeogénesis de hidratos de carbono a partir de las grasas (161,162,163).

UTILIZACION DEL AZUCAR SANGUINEO.- Del azúcar que los tejidos periféricos separan constantemente de la sangre, una parte es acumulado en forma de glicógeno y otra utilizada como fuente de energía para ser -- empleada por los tejidos para sus necesidades metabólicas. Este segundo hecho es el que designamos como utilización del azúcar por los tejidos; es decir, que esto no significa necesariamente que el azúcar sea oxidado, limitándonos con este término a indicar que el substrato, o una parte de él, ha desaparecido ~~de la sangre~~ ~~de la sangre~~ de la sangre, sin que su cantidad equivalente ~~haya~~ haya sido depositada como glicógeno en los tejidos.

La utilización del azúcar de la sangre ha sido medida en el animal hepatectomizado, expresada por la cantidad de azúcar que desaparece de la sangre circulante en un tiempo dado, o mejor aún, por la cantidad de azúcar que en este tiempo es necesario introducir

en la circulación para que la glicemia permanezca constante. Esta, sin embargo, es mas bien una demostración que una medida de la utilización del azúcar sanguíneo, ya que parte del azúcar desaparecido de la sangre, es almacenada en los tejidos y otra transformada en ácido láctico y en otras sustancias. La utilización cuantitativa de azúcar por los tejidos en el animal, ha sido determinada por DALE, BEST (164,165,166) y colaboradores, en experiencias de balance en las que se determina el contenido en hidratos de carbono de los tejidos de gatos especiales oviscerados en los que se mantiene una glicemia constante por inyección intravenosa de azúcar. manteniendo una glicemia de 240 mgs. de glicosa por 100 centímetros cúbicos de sangre, calculan los autores que sus animales utilizan 392 mgs. de glicosa por kilogramo y por hora.

Un balance ~~primero~~ mas preciso es investigado por SOSKIN y LEVINE (70,71) que estudian la utilización de hidratos de carbono en el perro cuyas vísceras abdominales han sido completamente extirpadas, determinando glicemia, lactacidemia, glicógeno, hidratos de

carbano y ácido láctico, m<sup>u</sup>culares, al comienzo y al final de cada experimento, y la cantidad de azúcar que es necesario suministrar al animal para mantener un nivel glicémico dado. MOSKIN y LEVIN demuestran que la utilización de azúcar por el músculo varía con la glicemia. A un nivel glicémico normal, son necesarios 224 mgs. de glicosa por kilogramo de peso y por hora. Al animal diabético es necesario suministrarle mas azúcar para que la utilización sea del orden del normal. LUNDSCGAARD, confirma que la utilización de azúcar, depende de la cifra glicémica, pero solo dentro de ciertos límites. Así en los animales diabéticos encuentra una utilización normal hasta un nivel glicémico de 350 miligramos por 100c.c.; si la glicemia es aumentada, la utilización se hace menor. CHAMBERS y BARKER, critican las experiencias en animales eviscerados, sobre la base de lo poco fisiológico de las condiciones experimentales (167).

La utilización de azúcar ha sido también demostrada en el animal intacto y en tejidos aislados (23,165,166,168,169,170). Aquí, como en

el caso de los animales eviscerados, existen fuertes discrepancias entre los datos aportados por el balance químico y los que nos proporciona el estudio del recambio respiratorio. Las <sup>diferencias</sup> discrepancias de la glicemia, por otra parte, -balance entre el azúcar que entra en la circulación procedente del hígado y el que desaparece separado por los tejidos-, no son datos que por sí solo nos indiquen las variaciones de nivel glicémico producidas (SCSKIN). En efecto, la glicemia está regulada en el organismo animal por mecanismos precisos, es difícil, pues, evaluar los resultados obtenidos por la utilización del azúcar en el animal intacto, sin eliminar otros factores, principalmente el hígado, y secundariamente el páncreas, lóbulo anterior de hipófisis, suprarrenales, tiroides, sistema nervioso central y simpático, que entre otros menos conocidos, intervienen en la regulación de la glicemia.

En otras palabras, al introducir azúcar en un organismo animal normal, no estamos en condiciones de saber que cantidades del mismo

van a ser depositadas como glicógeno, cuales van a ser transformadas y cuanto va a ser utilizado con fines energéticos. Solamente la concentración de glicosa en la sangre, que transitoriamente se eleva al administrar azúcar, permanece con pequeñas variaciones dentro de límites fijos en diversas condiciones en un animal normal.

EL HIGADO EN LA REGULACION DE LA GLICEMIA.- Considerada la glicemia como la expresión de un balance dinámico entre destrucción, depósito y utilización de azúcar, por una parte, y formación de glicosa por el hígado por otra,, los fisiólogos contemporáneos, confirman las investigaciones de CLAUDIO BERNARD (10) según las cuales el hígado es el órgano mas importante en la regulación de la glicemia.

El estudio de la regulación glicémica, se ha hecho principalmente mediante las llamadas pruebas de sobrecarga de azúcar, que consisten en la expresión gráfica de la hiperglicemia, obtenida a continuación de la administración de un azúcar, generalmente de dígitosa, y el tiempo que transcurre para que el nivel glicémico vuelva <sup>a ser normal</sup>. En resumen

los datos principales que permiten afirmar que es el hígado el órgano verdaderamente fundamental en la regulación de la glicemia, son:

1).- En los animales normales para que tenga lugar la normalización de la glicemia después de una sobrecarga de glicosa, es esencial la existencia del hígado. Por el contrario, el retorno al nivel glicémico normal, no se debe a una secreción anormal de insulina por estímulo del azúcar sobre el páncreas como han creído algunos, interpretando la curva glicémica obtenida en los animales pancreatectomizados como debida a la falta de respuesta pancreática (23,171). El papel del hígado independientemente del páncreas, ha sido demostrado por SOSKIN y colaboradores (172) en dos tipos de experimentos: Los perros pancreatectomizados en los que su glicemia se mantiene dentro de los límites normales, por infusión continua de insulina, muestran una curva de glicemia similar a la de los animales normales. Por otra parte, en los perros hepatectomizados, pero con su páncreas íntegro, en los que su glicemia se mantiene dentro de límites normales por infusión continua



de glicosa, la curva de glicemia difiere considerablemente de la del animal intacto, mostrando una glicemia alta y un descenso muy lento, es decir, que la curva es marcadamente "diabética". Esto no quiere decir, como mas adelante veremos, que el páncreas no intervenga en la cuantía del nivel glicémico, sino que cuando la regulación de la glicemia se ha perdido, ello no ha de ser prózosamente atribuido a una alteración de la función pancreática.

2).- Que el hígado regula por sí mismo la glicemia ha podido apreciarse ya en las experiencias anteriores en las que el hígado de perro sin páncreas, reponde a la administración de glicosa, disminuyendo la cantidad de azúcar que suelta a la sangre. Parece como si la concentración de la glicosa en la sangre influyese su propia regulación.

TAUBENHAUS, LEVINE y SORKIN (173,174) en papilla de hígado a la que se añade azúcar, han observado que la glicogenolisis es inhibida, para límites dados, por la cantidad de azúcar presente. Pruebas concluyentes de la existencia de un mecanismo homeostático

en el hígado, han sido aportados por SOSKIN, ESSEX, HERRICK y MANN, (175), quienes miden, en animales, la cantidad de sangre que pasa por el hígado por unidad de tiempo, y las diferencias en el contenido del azúcar que entra y el que sale de este órgano. La suelta de azúcar a la sangre, que tiene lugar por el hígado antes de la administración de glicosa, cesa casi a continuación de la introducción de azúcar. Durante la segunda hora que sigue a la administración del azúcar, el hígado ni retiene ni suelta azúcar; pasado este periodo, el hígado vuelve nuevamente a lanzar azúcar a la circulación.

3).- La independencia del hígado de las glándulas endocrinas, para regular el azúcar sanguíneo, ha sido demostrada por las experiencias de HOUSSAY, (176), que observa que los animales sin páncreas y sin hipófisis, si bien tienen una glicemia inicial alta, las curvas de sobrecarga a la glicosa, vuelven a los valores iniciales, de forma semejante a los animales normales. Es decir, que en ausencia de la hipófisis y del páncreas, el hígado es capaz de regular la glicemia.

Los hechos aquí resumidos ponen de manifiesto, que aparte de otros mecanismos, que también resumiremos, el hígado es el órgano que de una manera principal, interviene en el mantenimiento del nivel glicémico dentro de límites reducidos.

PAPAL DEL PANCREAS EN EL METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO.-

Ya desde los primeros trabajos de MERING y MINKOWSKI en perros panorectmizados, se pudo poner de manifiesto, que la diabetes mellitus, estaba relacionada de alguna manera con la existencia de algún factor existente en el páncreas. El descubrimiento de la insulina en 1921 por BANTING y BEST, no solo ha proporcionado un agente terapéutico eficaz en el tratamiento de la diabetes mellitus, sino también un medio para el estudio del metabolismo hidrocarbonado.

Son bien conocidos algunos de los efectos fisiológicos de la insulina. La administración de esta a un individuo normal, produce descenso de la glicemia, inhibición de la gliconeogénesis, aumento del glicógeno muscular, disminución de la formación de glicosa por

el hígado como consecuencia de una acción frenadora de la glicogenólisis, aumento de la oxidación de azúcar, disminución del fósforo inorgánico y del potasio de la sangre.

En cuanto al modo de como la insulina ejerce su acción en el metabolismo hidrocarbonado, es muy discutido y no haremos aquí sino mencionar algunas de las explicaciones.

En los años inmediatos a su descubrimiento, pudo observarse que por la acción de la insulina tiene lugar un aumento de la oxidación de la glicosa en los músculos; en el individuo normal un aumento de la glicemia estimula la secreción de insulina del páncreas, produciéndose una utilización mas rápida de azúcar por los tejidos periféricos y regulándose de esta manera la glicemia. En la diabetes existiría un trastorno en la utilización del azúcar por haber disminuido la secreción de insulina. Es la teoría clásica de la no utilización (23,<sup>177</sup>178,179,180,181,182,183,184,185,186, y 187).

Sin embargo, al ir conociéndose mejor los efectos fisiológicos de la insulina, la revisión de los datos acerca del cociente respi-

ratorio creciente D:N, excreción urinaria de cuerpos cetónicos, estudios de balance químico de la utilización de hidratos de carbono, del mecanismo homeostático del hígado y la introducción de la diabetes aloxánica como medio experimental en el estudio del metabolismo de los hidratos de carbono, (187,188,189,190,191) pudo comprenderse que la insulina ejerce su acción por mecanismos mas complejos que el de facilitar simplemente la utilización de hidratos de carbono. Sin entrar en la discusión del problema, parece que el hecho fundamental en el mecanismo de la acción insulínica, estriba en que por efecto de ésta cesa en el hígado la gliconeogénesis y además tiene lugar una disminución de la glicogenolisis, fenómenos ambos que tienen ~~que~~ por consecuencia una disminución de la cantidad de glicosa que el hígado vierte en la sangre.

La acción de la insulina sobre la gliconeogénesis de las proteínas ha sido demostrada principalmente por estudios de balance. Ya MACLEOD (192) pudo observar (y luego ha sido confirmado, 73) que los

diabéticos, excretan cantidades anormalmente grandes de nitrógeno por la orina y que esta extra-excreción es contrarrestada por la insulina. GAELE<sup>1</sup> y ROBINSON (194) y MIRSKY (193), estudiando la acción del lóbulo anterior de la hipófisis sobre las proteínas, encuentran que los extractos de aquel en el animal normal, provocan una retención de nitrógeno, en tanto que los mismos en el diabético, dan lugar a un aumento de esta excreción. De aquí, la confirmación indirecta de la existencia de un efecto ahorrador del nitrógeno por la acción de la insulina. MACKAY y colaboradores (195) en ratas mantenidas con una dieta de caseína y almidón, observan que el balance nitrogenado se hace mas positivo por la administración de insulina. JANNEY y SHAPIRO (196) aprecian en animales normales, por efecto de la insulina, un aumento en el ahorro del nitrógeno, sumado a la acción ahorradora de la glicosa. BACH y HOLMES (190) demuestran que "in vitro" la insulina disminuye la neoglicogénesis de cortes de hígado, al mismo tiempo que tiene lugar una menor formación de urea. STADIE,

LUKENS y ZAPP (197) confirman que "in vitro" la insulina disminuye la neoglicogénesis de las proteínas, por inhibición de la desaminación oxidativa de los  $\alpha$ -aminoácidos.

La inhibición de la neoglicogénesis a partir de las grasas, por la acción de la insulina, ha sido observada por <sup>distintos</sup> autores (79,106,107, 124,125,134,135,136,137,138,139,140,141,142,143,144,157,198) y no insistiremos aquí sobre ello.

La inhibición de la glicogenolisis hepática por la insulina, sospechada desde algún tiempo antes por CORI (199) y otros (200), fué claramente demostrada en 1934 por ISSEKUTZ y SZENDE (201). La glicogenolisis en el hígado estaría controlada, a su vez, por la concentración de azúcar en la sangre, actuando ésta por tres mecanismos: directo sobre las células del hígado, sobre un centro nervioso que transmitiría sus impulsos directamente a las células del hígado y por la secreción de alguna glándula -que controle la actividad glicogenolítica (LOVATT EVANS, 202).

Es evidente que la secreción de insulina está regulada, ante todo, por la cuantía de la glicemia. El aumento de la glicemia, provoca elevación de la secreción de insulina (203,204,205,206,207, 208,209, y 210). Por el contrario, todas las hipoglicemias son seguidas de una disminución de la secreción de insulina (209,211,212,213, 214, 215, y 216). Existe además normalmente un mecanismo nervioso en la regulación de la secreción insulínica, que aunque accesorio y no indispensable -la denervación del páncreas "in situ" o transplantado, no da lugar a diabetes, 217,218, y 219- interviene para que tenga lugar la regulación de la secreción endocrina del páncreas (HOUSSEY). Ya CORRAL en el año 1918, pudo demostrar que la excitación del nervio vago es capaz de dar lugar a un descenso de la glicemia (220). El papel de los nervios vagos en la regulación de la secreción insulínica, está hoy demostrado, si bien ~~en~~ su función sea secundaria y no indispensable (221,222,223,224,225 y 226). El estímulo de los centros vegetativos superiores, da lugar a impulsos que estimulan la secreción de insulina, a través de los nervios vagos. No está



clero todavía cuales son los centros vegetativos que intervienen en la regulación de la secreción insulínica; BRUGSH lo sitúa en el núcleo del vago; DONHOFFER y MCLEOD en la protuberancia ~~anterior~~ anular y LA HARRE en la región talámica (167).

En la diabetes, la suelta de azúcar por el hígado, no estaría inhibida, debido a la disminución o falta de la secreción de insulina, y de aquí la hiperglicemia y la glicosuria. Es la teoría de la superproducción de azúcar, que como la de la no utilización, solo mencionaremos sin detenernos en ellas-, según la cual la diabetes se produciría por un aumento de la gliconeogénesis, sin que tengan que existir forzosamente, alteraciones en la utilización del azúcar (72,81,227,228 y 229). Sin embargo, entre otras muchas objeciones a esta teoría, señalaremos aquí las de GRANDALL y LIPSCOMB (230), quienes utilizando la técnica de la angiostomía de LONDON, miden directamente la producción de glicosa por el hígado en la diabetes experimental, encontrando que la superproducción de glicosa

por el hígado no es un factor esencial en la diabetes.

Se ha discutido mucho en los últimos años, si la acción fundamental de la insulina sería la de anular la acción inhibidora que sobre la reacción de la hexoquinasa ejerce el lóbulo anterior de la hipófisis (231,232). La reacción de la hexoquinasa -glicosa más adenosintrifosfato  $\rightarrow$  fosfato-6-glicosa más adenosindisfosfato - representa la etapa inicial en la utilización de la glicosa por los tejidos animales y es inhibida por extractos del lóbulo anterior de la hipófisis, inhibición que es reforzada por extractos de corteza suprarrenal y frenada por la insulina. Cuando la reacción de la hexoquinasa es inhibida, por exceso de material hipofisario o por falta de insulina, la glicosa no podría ser utilizada. Por el contrario si por exceso de insulina se impide la inhibición de la reacción de la hexoquinasa, la glicosa sería más rápidamente fosforilada, y habría un exceso de los derivados de fosfato-6-glicosa (DUVE y HERS, 216). Estas afirmaciones, están mantenidas por ciertos hechos expo-

-51-

rimentales: Que la insulina, aumenta la ~~mayor~~ asimilación de glicosa en experimentos de perfusión de las extremidades inferiores del gato, ha sido demostrado por LUNDSGAARD y colaboradores (233). Además el estudio con fósforo isotópico en cobaya (32) de la distribución de las fracciones fosforadas de la sangre, no indican un <sup>metabolismo</sup> ~~mayor~~ aumentado después de la inyección de insulina (215). La transformación de glicógeno en ácido láctico en los extractos de músculo, no es inhibida por la hipófisis. Los extractos musculares de ratas normales o diabéticas por aloxana que han sido inyectadas con extractos de hipófisis, muestran en casi todos los experimentos, -a veces se produce la inactivación de los extractos de hipófisis por los de músculo-, abolición de la reacción de la hexoquinasa, especialmente cuando se añade extractos de corteza suprarrenal. La adición de insulina a estos extractos, nunca ha dejado de deshacer la inhibición existente, (CORI y CORI 234). Estos y otros experimentos (235, 236, 237, 238 y 239), explicarían la menor utilización de glicosa en ani-

males pancreatectomizados en comparación con los pancreatectomizados e hipofisectomizados, e indicarian, al menos, sobre que momento de las transformaciones metabólicas de los hidratos de carbono actúa la insulina. En la diabetes humana, muchos casos serian debidos a un exceso de antagonistas de la insulina. (MIRSKY, 240). Sin embargo, la única función de la insulina no debe ser la de contrarrestar a la hipófisis en la acción inhibidora de la reacción hexoquinasa. La producción de inhibidores de esta reacción en otros lugares distintos de la hipófisis, ha sido demostrada (241). Por otra parte, se han descrito cierto número de substancias procedentes de tejidos animales, a las que se atribuye acción antiinsulínica. En el páncreas mismo, parece confirmarse la existencia de un principio antagonista de la insulina, procedente de las células alfa de los islotes de Langerhans, y cuya inyección en el peritoneo de las ratas, da lugar a descenso del glucógeno hepático e hiperglicemia (242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250 y 251).

pero cualquiera que sea la forma en que actúe la insulina, es evi-

- 55 -

dente que "la glicemia en un momento dado, es expresión de la actividad insulínica, solamente en función de un equilibrio hormonal de factores antagonistas" (JIMENEZ DIAZ, 252). En consecuencia la diabetes no es necesariamente el resultado de una enfermedad exclusivamente pancreática, sino más bien un trastorno de regulación hormonal mas complejo. (JIMENEZ DIAZ y otros, 252), 253)

## **PAPEL DE LA HIPÓFISIS**

**6**

**6**

**-54-**

Hacia tiempo que las observaciones experimentales y clínicas, -principalmente en la diabetes-, parecían indicar la existencia de alguna relación entre el lóbulo posterior de la hipófisis y el metabolismo hidrocarbonado (254,255,256,257 y258). Sin negar la participación de los extractos de lóbulo posterior de la hipófisis en el metabolismo de los glúcidos, consideramos con SOSKIN y LEVINE (72), que sus efectos -elevación de la concentración de la glicemia, p.e.-, son mas bien de importancia farmacológica que fisiológica.

El conocimiento del papel fundamental de la hipófisis en el metabolismo de los hidratos de carbono, solo comienza a ser conocido, a partir de los trabajos del fisiólogo argentino B.A. MOUSSAY, y de los de sus colaboradores. Estas investigaciones demuestran que en la hipófisis, la parte que interviene decisivamente a este respecto, es el lóbulo anterior. Los hechos establecidos por MOUSSAY y colaboradores son:

- 1).- Los animales hipofisectomizados responden con convulsiones a dosis de insulina 10 veces menores que la dosis convulsiva ordinaria, y además los efectos de la insulina, son mas prolongados (259).
- 2).- En el animal pancreatectomizado, la diabetes se hace menos intensa, después de la hipofisectomía; (260,261,262 y 263).
- 3).- El animal normal o hipofisectomizado, tratado con extractos del lóbulo anterior de la hipófisis (L.A.H.) experimenta una disminución de su sensibilidad a la hipoglicemia insulínica. El mismo tratamiento en el animal hipofisectomizado y pancreatectomizado, conduce a un aumento de la gravedad de su diabetes (261,262,263 y 264).
- 4).- La administración de extractos de L.A.H. a animales normales, puede dar lugar a diabetes, hecho establecido al mismo tiempo por MOUSSAY y colaboradores (265), por EVANS y colaboradores (266) y por BAUMANN y MARINE (267).

Si bien es cierta la intervención del L.A.H. en el metabolismo de los glúcidos, la naturaleza de su participación es mal conocida. Es en efecto difícil de dilucidar, cual es el papel que corresponde

a la hipófisis aisladamente y en relación con otras glándulas de reacción interna, como no solo en cuanto al recambio hidrocarbonado, sino también en relación con el metabolismo del agua, de las grasas y de las proteínas. A esto hay que añadir la diferencia en la respuesta a la hipofisectomía y a la administración de extractos, en las diferentes especies animales (RUSSMILL, 268). Aquí nos limitaremos a revisar brevemente algunas de las principales acciones que el L.A.H. ejerce sobre el metabolismo de los hidratos de carbono.

La acción anti-insulínica del L.A.H., primeramente demostrada por MOUSSAY y POTICK (260) y por BANDETTO (264), ha sido confirmada posteriormente (269,270,271,272,273,274,275,276,277 y 278). De esta acción se considera responsable un llamado "principio glicotrópico", distinto del diabetógeno (279), de la prolactina (279,280) y de las hormonas gonadotrópica, tireotrópica (279,280), cetogénica y melanófora (259). La substancia glicotrópica, no ha sido, en cambio, claramente diferenciada de otros principios hipofisarios, particularmente de la substancia "glicostática" (281). YOUNG



(269,272), trata a animales normales en ayunas con extractos de L.A.H. que contienen principio glicotrópico y <sup>observa</sup> ~~observa~~ el almacenamiento en músculos e hígado de cantidades anormalmente grandes de glicógeno, durante un corto periodo de ayuno. El hecho de que los extractos de L.A.H. en los perros pancreatomizados, no causen aumento del glicógeno hepático (282) indica que ambas hormonas, hipófisis e insulina, son necesarias para el mantenimiento del máximo nivel de glicógeno. En cambio en el animal hipofisectomizado y adrenalectomizado, los extractos de L.A.H., son suficientes para mantener el glicógeno muscular, pero no lo son los extractos de corteza suprarrenal (283). La hipersensibilidad a la insulina en los animales hipofisectomizados, parece ser un fenómeno extrahepático, como sugieren las experiencias de BENNETT y ROBERTS (241) en ratas hipofisectomizadas y evisceradas, confirmando sus resultados el trabajo de HIMS WORTH y SCOTT (271) sobre la acción periférica de las hormonas del L.A.H.

Extractos crudos del L.A.N. dan lugar en animales normales en ayunas a hiperglicemia, glicosuria, poliuria, polidipsia, descenso del U.R., que se eleva al ser alimentado el animal, ketonuria e hiperlipemia. Esta acción diabetógena, es acompañada en los animales alimentados con una dieta calculada para mantener justamente el peso corporal, de retención de nitrógeno y aumento del peso; el balance nitrogenado es positivo, durante la diabetes, aun cuando el cociente D:N es de alrededor de 3'6; la pérdida de calorías es suficientemente compensada por un aumento en la oxidación de la grasa almacenada; hay disminución de la sensibilidad a la insulina y aumento de la sensibilidad a la adrenalina (252, 265, 266, 267, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294 y 295).

El principio diabetógeno del L.A.N. en los animales normales, parece estar compuesto de una parte termolabil y otra termoestable, esta última de acción extrapancreática (284, 296). La hormona diabetógena es una substancia que ha sido diferenciada de la prolactina,

de las hormonas gonadotrópicas y glicotrópicas del L.A.H. y de la ~~y de la~~ melanófora-~~expanding~~ de la pars intermedia; no ha sido en cambio diferencial de las substancias adrenotrópica, glicostática y cetógena. HOUSSAY y FOGLIA (19) observan que en los perros hechos diabéticos por tratamiento con extractos de L.A.H., la secreción de insulina por el páncreas, está disminuida. Aunque hay que admitir la posibilidad de que esto se deba a la inhibición de la secreción insulínica provocada por hiperglicemia producida por mecanismos extrapancreáticos, parece lo mas probable que la acción del principio diabetógeno sea la de actuar directamente sobre los islotes del páncreas, disminuyendo la secreción de insulina. Esta acción inhibitoria puede ser una parte del mecanismo responsable de la degeneración hidrópica y de la atrofia de las células de los islotes de Langerhans que se produce en el perro y en el gato si la hiperglicemia por extractos del L.A.H., es sostenida durante algún tiempo (LUKENS, 297). El efecto de la insulina sobre la acción

que los extractos del L.A.H. ejercen sobre la movilización de las grasas, ha sido estudiado por MCAMPBELL (198); según este autor la insulina puede actuar estimulando la utilización <sup>de</sup> pequeñas reservas de hidratos de carbono en el animal en ayunas o por aumento de la utilización de los hidratos de carbono formados por gliconeogénesis, y de esta manera provocar la insulina una disminución de la movilización de la grasa que tiene lugar en respuesta a los extractos de L.A.H.- En cuanto al mecanismo de la acción diabetógena del L.A.H., está muy incompletamente estudiado; los extractos de L.A.H. dan lugar a una disminución de la utilización de hidratos de carbono y a superproducción de glicosa; para conseguir el mayor efecto diabetógeno es necesario administrar alimentos proteicos e hidrocarbonados (297); ABELIN (298) y ELLADJIAN y colaboradores (299) demuestran que la administración de glicosa, estimula la secreción de hormona adrenocorticotropa de la hipófisis; si como sugieren DOHAN y LUKENS (300), la administración de glicosa en exceso tiene un efecto estimulante sobre la hipófisis, debería producirse diabetes en los animales hipofisectomizados

por la introducción de un exceso de glicosa (ANDERSON, 301).

En ratas que reciben durante varios días inyecciones de extractos de L.A.H., se produce en el páncreas, según ANSELMINO, HEROLD y HOFFMANN (302), un aumento en el número y en el tamaño de los islotes de Langerhans. Estos trabajos han sido posteriormente confirmados en lo esencial por YOUNG y colaboradores (303,304). Esta acción pancreotrópica que hace que la secreción de insulina sea considerablemente aumentada por la administración de algunos extractos de L.A.H. (304), explicaría según RICHARDSON y YOUNG (305) el porqué algunos perros son refractarios a contraer diabetes cuando se les trata con extracto de L.A.H. que contiene insuficiente cantidad de principio diabetógeno y por que extractos diabetógenos en perros no lo son en ratas; se trataría en este caso de una respuesta relativamente rápida del tejido de los islotes, a la acción pancreática del extracto. COHN y LOUIS (306) dan algunos datos acerca de este principio insulino-trópico del L.A.H. y creen que este provoca un estímulo directo

de los islotes de Langerhans. No está claro, sin embargo, la existencia de tal hormona (307). Si verdaderamente existiese ¿por qué en la hipofisectomía no se produce ninguna involución apreciable en los islotes de Langerhans?

La acción cetogénica del L.A.H. ha sido puesta de manifiesto por BURN y LING (308) y por otros (259, 309). SHIPLEY y LONG (310), consideran ~~que~~ la posibilidad de que no exista un principio cetogénico independiente de los factores diabético y de crecimiento de la hipófisis, y sugieren que la acción cetogénica de los extractos de L.A.H., pueda ser debida a la disminución del catabolismo hidrocarbónico y de las proteínas, por efecto de tales extractos.

No nos detendremos aquí en el estudio de la diabetes provocada aisladamente por inyecciones de extractos de L.A.H. o diabetes meta-hipofisaria de YOUNG (293, 307, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318,) de la de los animales hipofisectomizados y pancreatectomizados -animales HOUSSAY- (176, 294, 319, 320 y 321) y de la de los hipofisectomizados

y adrenalectomizados (283,322,323,324). No es tampoco nuestro objeto discutir aquí la cuestión de la individualidad e interacción de los factores hipofisarios en relación con el metabolismo hidrocarbonado (259,281,325,326,327,328,329,330 y 331).

PAPEL DE LA CORTEZA SUPRARENAL Y DE LA HORMONA CORTICOTROPA DE LA HIPOFISIS.-

Los cambios producidos en el animal adrenalectomizado han sido causa de que la función de estas glándulas en el control del metabolismo de los hidratos de carbono, haya sido considerada secundariamente, respecto a otras funciones de la corteza.

En el animal adrenalectomizado se producen tan profundas alteraciones en el metabolismo del agua, del sodio y del potasio, principalmente, que algunos autores no han dudado en atribuir a ellas la causa preponderante de la muerte en tales animales (332,333,334, 335,336,337,338,339/,340 y 341). Sin embargo, también entre otras, las alteraciones en el metabolismo hidrocarbonado son importantes y también directa o indirectamente intervienen en la "muerte y en la

deficiencia suprarenal".- JIMENEZ DIAZ, MARAÑON y otros (323,343, 343,344,345,346,347,348,349,350,351,352,353,354,355,356,357).

Los animales adrenalectomizados, mantenidos con sales de sodio, de manera que muestren un balance de agua y de electrolitos practicamente normal, presentan en ayunas: un rápido ~~crecimiento~~ <sup>crecimiento</sup> del glicógeno hepático primero y del muscular después; marcada hipoglicemia, que pe. en la rata es frecuentemente causa de convulsiones hacia las 48<sup>horas</sup> de la operación; disminución del nitrógeno urinario. La administración a estos animales, de extractos corticales o de cortico esteroides activos, da lugar a un gran aumento del glicógeno hepático, ligera hiperglicemia y al aumento de la excreción de nitrógeno (333,334,345,346,37,348,353,354,358 á 420).

La disminución del contenido en hidretos de carbono en la sangre y en los tejidos de los animales adrenalectomizados, ha sido estudiada por gran número de autores, con resultados diferentes (359 á 384). BRITTON y colaboradores (345,346,386) atribuyen par-



te de estas discrepancias en los resultados, a las diferencias que entre el descenso de glicógeno en el hígado y en el músculo, se presentan de unas especies animales a otras. LONG, KATZIN y FRY (421) en un estudio detallado en ratones y ratas adrenalectomizados, confirman que, en efecto, en los animales en ayunas, existe un considerable descenso del nivel de hidratos de carbono, pero que por el contrario, en los animales alimentados, el contenido en hidratos de carbono del hígado, músculo y sangre, es practicamente normal. La administración de hormona cortical, tanto en las ratas y ratones adrenalectomizados, como en los normales en ayunas, va seguido de un gran aumento del glicógeno hepático y de ligera hiperglicemia, pero el glicógeno muscular, no es afectado; sin embargo, si los animales son alimentados se acumulan grandes cantidades de glicógeno en el hígado y puede en este caso, haber también aumento del glicógeno muscular.- OLSON y colaboradores (422) encuentran como la de mas actividad glicogenética, entre seis hormonas corticales crista-

lizadas, la 17-Hidroxycorticosterona.

El aumento en la excreción de nitrógeno en los animales en ayunas, tratados con esteroides corticales activos, es de suficiente magnitud para sugerir que en el aumento del catabolismo de las proteínas, es donde hay que buscar el origen de los hidratos de carbono recién formados (421).- LONG (399) considera que aunque el mecanismo exacto de la acción de las hormonas corticosuprarenales, sobre el metabolismo de los glúcidos y de las proteínas, es aun desconocido, dos procesos son recíprocamente influenciados: la oxidación de la glicosa en los tejidos periféricos y la formación de hidratos de carbono, de aminoácidos, o de sus residuos, después de ser aquellos desaminados; el hecho de que la gliconeogénesis va además acompañada de aumento en la excreción de potasio y de fosfatos, pudiera tener relación con ella.

Hace unos años, TURCATTI pudo observar que la diabetes provocada en el perro por la extirpación total del páncreas, es mejorada después de la adrenalectomía (423). El hecho ha sido posterior-

mente confirmado en distintas especies animales (323, 424 á 428). LONG y sus colaboradores (421) en ratas parcialmente pancreatectomizadas según una modificación de la técnica de SHPAIRO y PINCUS (429) obtienen las importantes conclusiones siguientes: a) la adrenalectomía con el subsiguiente mantenimiento del animal con sales de sodio, conduce a una disminución de la excreción de glicosa; b) la administración de extracto cortical o de corticosteroides activos, por vía oral, o agrava la glicosuria de los animales con las suprarrenales intactas, o la hace reaparecer en los adrenalectomizados mantenidos con sales de sodio, pudiendo en este último caso, aumentar la glicosuria, por administración de suficiente hormona, hasta alcanzar proporciones mayores que la de antes de la adrenalectomía.

Hemos visto que la hipofisectomía provoca profundos disturbios en el metabolismo hidrocarbonado, cuyas principales manifestaciones son: descenso del nivel de hidratos de carbono en los animales en ayunas, aumentos del cociente respiratorio y de la sensi-

bilidad a la insulina. Si los animales hipofisectomizados, son tratados con extractos corticales, sus condiciones generales mejoran hasta llegar a ser semejantes a las de los animales normales en ayunas; además el glicógeno hepático y la glicemia se elevan a valores superiores a los normales con pocos cambios en el glicógeno muscular y la excreción urinaria de nitrógeno, está también aumentada (430 & 436).

En gatos, HOUSSAY, tratados con extractos corticales activos, han podido apreciar LUKENS y DOHAN, aumento de la glicemia y de la excreción de nitrógeno y glicosuria (427). El hecho ha sido confirmado también en la rata, por HARRISON y LONG (385).

En los perros a los que se les ha extirpado la hipófisis y el páncreas, la acción diabética de los extractos del L.A.H., es más marcada y de aquí que según LONG y colaboradores (323, 421, 434, 437, 438) este efecto pudiera ejercerse, al menos en parte, a través de la corteza suprarrenal. Si, como ya hemos dicho, los ani-

males hipofisectomizados tratados con extractos activos de corteza suprarrenal, mejoran hasta llegar a ser en unas condiciones generales, semejantes a los animales normales, ello indicaría según LONG y colaboradores, que la extirpación de la corteza suprarrenal, colocaría a los animales en situación semejante a la de la extirpación de la hipófisis. Es evidente no obstante, que la actividad total de la hipófisis, no puede ser sustituida por la de la corteza de las glándulas suprarrenales. Así HOUSSAY y LELAÏR (439), mantienen diabéticos a perros adrenalectomizados, por la administración de extractos hipofisarios; luego la corteza suprarrenal, no es esencial para la actuación del principio diabetógeno de la hipófisis.

BARNET (440) observa: 1) las ratas adrenalectomizadas, tratadas con cortico hormona y cloruro sódico, mantienen sus valores de glicógeno muscular; 2) por el contrario, con el mismo tratamiento son incapaces de mantener sus depósitos de glicógeno las ratas hipofisectomizadas y 3) aun después de la adrenalectomía, el tra-

también con extracto de L.A.H., mantiene el glicógeno muscular al nivel de las ratas hipofisectomizadas en ayunas. De estas experiencias, parece pues deducirse que la corteza suprarrenal participa en la gliconeogénesis hepática, pero que esto no se verifica necesariamente a través de la hipófisis.

Sin embargo, la existencia de un factor hipofisario, que actúe estimulando la corteza suprarrenal, parece demostrado. P.E. SMITH (1930) y H.M. EVANS (1932), observan que la corteza suprarrenal de las ratas hipofisectomizadas, aparece atrofiada, pudiendo ser restaurada por inyección de extractos hipofisarios. BOUSSAY y colaboradores, han demostrado que la médula suprarrenal, no es afectada fundamentalmente por la hipofisectomía (441). Después de esto ha sido aislada, la hormona adrenocorticotropa ó corticotropa, independientemente en los laboratorios de EVANS (442,443) y de LONG (330) y estudiadas posteriormente sus propiedades químicas (444). La hormona corticotropa (H.C.T.) inhibe el crecimiento de las ratas

- 71 -

-efecto antagónico al de la hormona del crecimiento- y ~~retarda~~ retarda la formación de los huesos (329,444 á 449). Otros efectos demostrados por administración de H.C.T. a ratas normales, son: glicosuria similar a la que se obtiene con 17-hidroxicorticoesterona (402,450,451); aumento de la excreción de nitrógeno, antagonista también de la de la hormona de crecimiento, bajo cuyo influjo tiene lugar una retención de nitrógeno (451); la acción diabética de la H.C.T., ha sido de nuevo puesta de manifiesto por BENNETT y LI en ratas con diabetes aloxánica (452), en las que observan que la H.C.T. agrava la diabetes y su acción es opuesta a la de la insulina en sus efectos sobre la excreción de glicosa y de nitrógeno, elevación de las beta y <sup>gamma</sup> ~~gamma~~ globulinas del plasma según DOUGHERTY y WHITE (453 á 455) similar al aumento de las proteínas del suero que se observa por inyección de hormonas corticales y que son negadas (para la H.C.T. y para las corticales) por otras que solo observan aumento de la albúmina del suero (456, 457);

descenso en el contenido de colesterolina y ácido ascórbico de las suprarrenales (458 á 461). La falta de efecto renotrópico de la H.C.T., ha sido demostrada (462) probándose que la actividad nefrosclerótica del lóbulo anterior de la hipófisis no es debido a la H.C.T. sino a un factor desconocido de la hipófisis anterior, que estimula la secreción de hormonas corticosuprarrenales (463 á 465).

Las experiencias enumeradas y otras, cuya referencia sería prolijo señalar, indican que la corteza suprarrenal, por el estímulo de la H.C.T., aumenta su producción, y la secreción de esteroides que afectan al metabolismo hidrocarbonado (444, 446 y 467).

#### PAPEL DE LA MENDULA SUPRARENAL.-

La conversión de glicógeno hepático en glicosa sanguínea y de esta en glicógeno muscular, y la conversión de este en ácido láctico que de nuevo es parcialmente



una serie de cambios, que son acelerados por la adrenalina. Nuestros conocimientos acerca de los efectos de la secreción de la médula suprarrenal sobre el metabolismo de los glúcidos, se deben principalmente a los trabajos de los CORI (23,468 á 470), que demuestran que el aumento de la secreción de adrenalina, o la inyección de esta, da lugar al mismo tiempo que a elevación de la presión sanguínea a la destrucción de glucógeno en el hígado, con hiperglicemia, glicosuria e hiperlactacidemia.

La intervención de la médula suprarrenal en la regulación de la glicemia, solo tiene lugar en circunstancias excepcionales y se acepta generalmente que constituye un mecanismo de urgencia, en unión del sistema simpático que entran en acción, cuando es necesaria una respuesta más rápida, enérgica y extensa que la aportada por los factores reguladores normales. La destrucción de la médula suprarrenal o su denervación y la simpatectomía total, no dan lugar a alteración alguna significativa del nivel glicémico (471 y 472).

El estímulo para que este mecanismo se ponga en marcha es la hipoglicemia insulínica, el receptor es la médula suprarrenal o un centro del cerebro. La secreción de adrenalina está controlada por los nervios esplánicos. La hiperglicemia prolongada y ~~en~~ la hiperlactacidemia que tienen lugar por el pinchamiento del suelo del cuarto ventrículo, según la experiencia clásica de CLAUDIO BERNARD, se deben al aumento que se produce en la secreción de adrenalina (CORI y WELCH).

El consumo de oxígeno después de la administración de adrenalina, está considerablemente aumentada, no solo en el animal en ayunas, sino también en el que se le ha administrado glicosa. Este efecto, al que BOOTHBY y SANDIFORD, han denominado acción calorigénica de la adrenalina, no ha sido totalmente explicado todavía, ya que solamente una parte de él puede ser atribuida a la energía liberada en la reconversión de ácido láctico a glicógeno (CORI y WELCH).

- 75 -

Del hecho de que la hipoglicemia actúe como estímulo para la secreción de adrenalina y que ésta dé lugar a hiperglicemia, se ha deducido que la insulina y la adrenalina, poseen acciones antagónicas. WEISSBERGER (215) estudia en el cobaya la influencia que sobre la distribución de fósforo radioactivo ejercen la insulina y la adrenalina. En el animal intacto, ambas hormonas provocan reducción del fósforo inorgánico y aumento de monofosfato de hexosa en el músculo. Puesto que la insulina no hace aumentar el contenido en monofosfato de hexosa en el músculo de los animales

-----

adrenalectomizados (43), este efecto fué atribuido a la adrenalina, y el descenso de fósforo inorgánico a la insulina.

Con toda la abundancia de literatura, no podemos asegurar todavía que las acciones de la médula suprarenal sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, se ejerzan independientemente de las de la corteza. Que la administración de adrenalina da lugar a cambios en la corteza de las glándulas suprrenales, fué observado por LONG y FRY (473). En un cuidadoso estudio, VOGT (474) refiere que la infusión intravenosa en perros, de dosis fisiológicas de adrenalina, provoca una inmediata y persistente liberación de hormonas de la corteza suprarenal. Parece posible, por consiguiente, que la disminución en la utilización del azúcar de la sangre, observada después de la inyección de adrenalina, sea debida al aumento de la secreción de corticoesteroides. Y cabe aun preguntarse, si gran parte, al menos, de los efectos de la adrenalina sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, no se ejercen en

realidad por aumento de la secreción de esteroides de la corteza suprarrenal.

#### EL TIROIDES.-

La tiroidectomía en animales normales, causa poca o ninguna variación en las curvas de sobrecarga de hidratos de carbono (475, 477).- DOHAN y LUKENS (478) encuentran que la extirpación del tiroides en el gato con diabetes pancreática, da lugar a pocas variaciones, sobre todo si se la compara con las que se derivan de la hipofisectomía. De los resultados de los autores reseñados, se ha deducido que el tiroides tiene poca intervención en el metabolismo de los hidratos de carbono. Contrariamente a estas opiniones, hay hechos que hacen resaltar el papel de la increción tiroidea en el metabolismo de los glúcidos. En primer lugar, en las experiencias últimamente citadas, parece que no ha sido debidamente comprobado el estado hipertiroides de los animales experimentales (SOSKIN, 72,81), tanto mas, cuanto que MARINE (479)

demuestra la existencia de tejido tiroideo aberrante en el 90% de los animales corrientemente usados en los laboratorios. En las enfermedades del tiroides, se han demostrado variaciones en la tolerancia normal a los hidratos de carbono (480). Según BODANSKY (481), la tiroidectomía, provoca en las ovejas, un descenso de la glicemia, que es a su vez elevada por la administración de tiroxina, tanto en los animales tiroidectomizados, como en los normales.

El conocimiento de la intervención del tiroides en el metabolismo de los glúcidos, se debe principalmente, a los trabajos de los equipos de HOUSSAY, en animales tireoprivos y parcialmente pancreatectomizados, y de SOSKIN, que administra tiroxina a perros hipofiseotomizados.

HOUSSAY y colaboradores (482 á 485) estudian las relaciones entre la actividad tiroidea y diabetes mellitus. En ratas tiroideotomizadas, puede extirparse hasta el 95 por ciento del páncreas,

sin que se produzca diabetes y sin que el tejido que queda degenera, pero si a estos animales se les alimenta con tiroides, se desarrolla en ellos diabetes. Igualmente la administración de tiroides a perros parcialmente pancreatectomizados, da lugar a diabetes que puede durar solamente mientras tiene lugar la alimentación de los animales con tiroides (diabetes tiroidea), o persistir después que esta alimentación ha sido suspendida (diabetes metatiroidea). En ambos casos las células beta de los islotes, resultan lesionadas, pero mientras en la diabetes tiroidea estas lesiones son reversibles, en la metatiroidea, son permanentes, y en este caso la diabetes presenta las peculiaridades de las que se observan en clínica humana. Por el contrario, en perros con pancreatoma total, la extirpación del tiroides, no modifica las características de la diabetes. Los autores argentinos, ponen de manifiesto, asimismo, que el hipertiroidismo aumenta y la tiroidectomía disminuye, la sensibilidad a la acción diabética de la aloxana.

SOSKIN y colaboradores (486,487) estudian los efectos de la administración de tiroxina en perros hipofisectomizados. En estos animales, en ayunas, los niveles glicémicos son sensiblemente normales. El efecto no puede ser atribuido a un nuevo descenso en la utilización del azúcar, baja ya en los animales hipofisectomizados, puesto que es un hecho conocido que el tiroides hace aumentar la utilización de azúcar por los tejidos periféricos (488 ;á 491). Por administración de tiroxina, la excreción urinaria de nitrógeno en perros hipofisectomizados, es aumentada hasta alcanzar el valor normal que tiene en los perros normales en ayunas. SOSKIN, concluye que la disminución de la gliconeogénesis, es debida -al menos en parte- a la atrofia que secundariamente a la hipofisectomía tiene lugar en la glándula tiroides, y que tendría por consecuencia, una disminución del catabolismo endógeno proteínas → amino ácidos. Esta explicación se apoya en las observaciones según las cuales el tiroides es capaz de influir sobre la gliconeogénesis de las pro-



teínas (492 /s 494). La intervención del tiroides en el metabolismo hidrocarbonado, parece pues, según estos estudios, que se ejerce a través de su acción en el catabolismo de las proteínas, actividad que está en íntima relación con la función de la hipófisis y para la cual es indispensable también, según SOSKIN, la presencia de la secreción interna del páncreas.

Si la intervención del tiroides en el metabolismo hidrocarbonado, dista mucho de estar aclarada, nada se conoce todavía de la influencia que sobre este pueda ejercer, la hormona tirotrópica de la hipófisis, de la que se han obtenido extractos muy concentrados (495 á 502) y de la que se conocen algunas propiedades (502, 503 á 512).

Sin entrar en la participación de otros órganos, -cerebro, corazón, bazo- que harían demasiado prolija esta exposición, quedan aquí señaladas la intervención de los órganos que de manera principal intervienen en el metabolismo de los hidratos de carbono.

- 82 -

SEGUNDA PARTE

6

EL RIÑON Y LA REGULACION DE LA GLICEMIA

-----

Expuesta brevemente la conocida participación de algunos órganos, fundamentales para el recambio hidrocarbonado, exponemos a continuación los estudios realizados, que nos han permitido llegar a conclusiones según las cuales el riñón es órgano cuya participación en el metabolismo de los hidratos de carbono, debe ser también considerada.

#### PORTE EXPERIMENTAL.-

##### TECNICAS

Nuestras experiencias han sido realizadas en perros, ratas y ratones normales adultos, dejando siempre, como se indica en las tablas y gráficas, algunos animales como controles.

Las glicemias han sido determinadas por los métodos de HAGEDORN y JENSEN (513) y de SHAFFER y HARTMANN (514). En casi todas las muestras han sido ejecutadas pruebas dobles.

El glicógeno ha sido determinado por el método de HOGGELTON y LOVATT EVANS (515).

La urea ha sido determinada por los métodos del hipobromito con el ureómetro de BARRON, y de BARKER (516).

Las Unidades xantoproteicas, según modificación de la técnica colorimétrica de BECHER (517), por CASTRO MENDOZA y FERNANDEZ PEREZ (518).

El fósforo inorgánico se ha determinado según la técnica de COHN (519).

Los lípidos totales y las proteínas han sido valoradas por CASTRO MENDOZA, según el método de BIELSCHOWSKY y CASTRO MENDOZA y CASTRO MENDOZA y A. MARTINEZ, respectivamente, (520,521).

Las valoraciones de histamina han sido hechas (Dr.Perianes), con la preparación del flego de cobaya, según la técnica de ARJONA, PERIANES y JIMENEZ DIAZ (522), modificación de la de GUGGENHEIM y LOEFLER (523).

- 85 -

Las cifras del cociente respiratorio han sido obtenidas con el interferómetro de Zeiss según la técnica de WOLLSCHITT y colaboradores (524) usando la fórmula de CATALAN y GRANDE (525).

RESULTADOS

1.- EFECTO DE LA EXCLUSION Y DE LA EXTIRPACION DE LOS RIÑONES.-

La glicosa ha sido determinada en la sangre de la arteria y vena femorales, en 4 perros en experimentos agudos. Los animales han sido anestesiados con morfina-luminal (acetato de morfina: 0,01 gr./kg. luminal sódico: 0,075 gr./kg.). Una vez anestesiados se dejan transcurrir de 4 a 5 horas, manteniendo a los perros abrigados con una manta eléctrica, con objeto de que <sup>se</sup> normalicen antes de proceder a las tomas basales de sangre. Después de éstas, se procede a la laparatomía y se pinzan el conjunto de los dos pedículos renales. Los resultados de los experimentos se resumen en la table I.

**TABLA I.-**

**EFFECTO DEL PINZAMIENTO DE LOS PEDICULOS RENALES. SOBRE LA GLICEMIA PERIFERICA.**

Experimento Número.	Pinzamiento de los pediculos renales.	Glicemia periférica mg. %.	
		Arteria	Vena
1	Muestras de sangre		
	Antes.....	118 123	112 110
	Minutos después; 30:	112 115	102 107
	Idem. 60:	128 119	158 158
	Idem. 120:	132 132	153 156
	Antes .....	85 87	-
	Minutos después: 10	84 88	86 86
	Idem.: 20	84 89	92 94
2	Idem.: 30	86 92	86 86
	Idem.: 60	100 103	94 92
	Idem.: 120	108 103	92 92

**TABLE I.- (Continuación).- - 88 -**

**EFFECTO DEL PINZAMIENTO DE LOS PEDICULOS RENALES. SOBRE LA GLICEMIA PERIFERICA.**

<u>Experimento número.</u>	<u>Pinzamiento de los pediculos renales. Muestras de sangre</u>	<u>Glicemia periferica mg. %</u>	
		<u>Arteria</u>	<u>Vena</u>
3	Antes.....	100	104
		99	106
	Minutos después: 30	110	103
		108	105
	Idem.: 60	96	94
		95	
	Idem.: 120	92	90
		93	90
4	Antes .....	84	90
		84	86
	Minutos después, 30	102	96
		96	104
	Idem.: 210	106	106
		108	106



Del exámen de estos resultados, deducimos que inmediatamente después de la exclusión circulatoria de los riñones, no tienen lugar variaciones de importancia en la glicemia periférica de estos animales.

En las tablas VIII, IX, XII y XIII, pueden apreciarse las variaciones del nivel glicémico, por efecto de la nefrectomía bilateral, a las 24 y 48 horas, respectivamente, y en algunos casos a las 72 y aun 96 horas, (experimento n° 25). Tabla II.

**TABLA II.-**

**VARIACIONES DIARIAS DE LA GLICEMIA PERIFERICA. DESPUES DE LA NEFRECTOMIA BILATERAL.- CIFRAS BASALES.**

**Experimento n° 85.-**

	INTACTO	NEFRECTOMIZADO			
		A las 24 horas.	A las 48 horas.	A las 72 horas	A las 96 horas.
Glicemias mgs.%(H.J.)	78	86	87	154	131
	75	89	91	157	131
Uremias mgs.%(B.)	87	201	368		
" " (NaBrO)			387	525	733
Unidades xantopro-					
teicas.....	29'0	78'8	88'0	91'6	118'4
Lípidos totales mgs.%	940	1290	910		
Fósforo inorgánico					
mgs. %. ....	6'7	7'3	12'7	12'8	14'3

H.J. : Método de HAGEDORN-JENSEN

B. : Método de BARKER

NaBrO.: método del hipobromito.

**TABLA II (Continuación)**

**Experimento n° 27.-**

	<b>INTACTO</b>		<b>NEFRECTOMIZADO</b>	
		A las 24 horas	A las 48 horas	A las 72 horas
(H.J.)	88	94	89	184
Glicemias mgs. %	84	92	87	156
(S.H.)	70	85	106	196
(B.)	73	218		
Uremias mgs.%				
(NaBrO)	65	231	533	693
Unidades xantoprotei- cas.....	22'2	61'4	96	104'5
Proteínas totales gs. %	5'050	7'100	7'300	9'150
Fósforo inorgánico mgs. % .....	5'1	8'8	14'3	13'0

S.H.: Método de SHAFER- HARTMANN

TABLA II (Continuación).-

Experimento n° 34.-

	<u>INTACTO</u>		<u>NEFRECTOMIZADO</u>	
		A las 24 horas.	A las 48 horas.	A las 72 horas.
Glicemias mgs. % (H.J.)	98	79	81	206
	94	75	81	218
	(S.H.)	73	93	206
Uremias (B.) mgs.%, .....	82	318	406	510

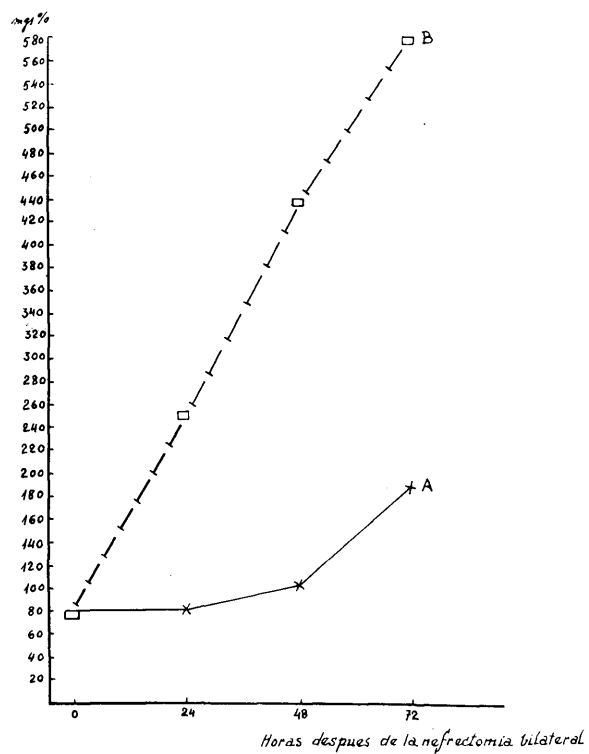
- 93 -

Puede verse que a las 24 y 48 horas de la nefrectomía, las diferencias existentes en la glicemia, estén dentro del límite del intervalo de variación que se encuentra de unos días a otros en los animales normales. Los perros que sobreviven después de las 48 horas de la nefrectomía, muestran al final una hiperglicemia. Esto puede apreciarse en la Gráfica I, obtenida con las cifras medias de 3 perros en estas condiciones. En la gráfica II, se expresan valores medios de los mismos animales.

**GRAFICA I.-**

**A: Glicemia en mgs. %.**

**B: Uremia en mgs. %.**

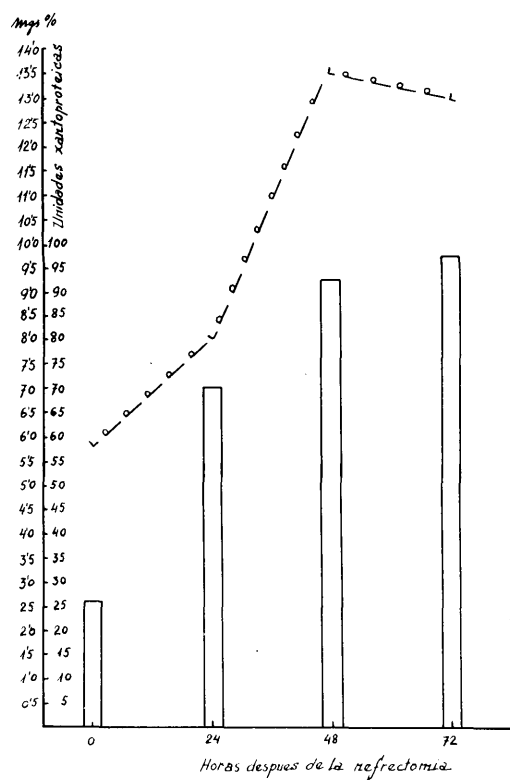


**Variaciones diarias de la glicemia periférica después de la nefrectomía bilateral. Cifras basales medias de tres perros.**

**GRAFICA II.-**

□ : Fósforo inorgánico en mg. %.

○ : Unidades xantoproteicas.



Cifras basales medias de los mismos perros de la Gráfica I.

**2.- DIFERENCIAS ARTERIO-VENOSAS EN EL RIÑÓN.-** Se han hecho observaciones sobre 8 perros, todos ellos sin comer desde unas 14 horas antes. Han sido anestesiados con Morfina-Luminal (acetato de morfina, 0'01 gr./kg. y luminal sódico, 0'075 gr./kg.). Antes de cada intervención, los animales permanecen abrigados y en reposo durante 4-5 horas. Las tomas de sangre, han sido realizadas en las venas renales y en la arteria y vena femorales, y los resultados, se recogen en la tabla III.



**TABLA III.-**

**GLICEMIA EN MUESTRAS DE SANGRE PERIFÉRICA Y EN LA DE LOS VASOS RENALES**

Experimento n°	Glicemia periférica mg. %		Glicemia en la vena renal. mg. %		Diferencia por 100 mg. %	
	Arteria	Vena	Derecha	Izqda.	V.R.D.	V.R.I.
2.....	85 87	- -	100	97	15	12
3.....	100 99	104 106	140	146	28	31
4.....	86 84	90 86	122	112	30	24
5.....	116 118	102 100	132	128	11	8
+ 6.....	117 117	106 108	117	111	-	-
7.....	116 115	110 106	138	132	16	12
8.....	111 111	92 92	118	122	5	9
10.....	92 92	87 90	97	106	5	13
Cifras medias..	102	98	120	119	18	17

V.R.D.: Vena renal derecha, V.R.I. Vena renal izquierda.- + Hemorragia.

Como puede verse, en todos los perros, excepto en el del experimento número 6 que ha sufrido una fuerte hemorragia, existe una diferencia en la glicemia, siendo ésta constantemente más alta en la vena renal que en la arteria. Estas diferencias llegan a alcanzar hasta 31 mgs. por ciento en uno de los perros, siendo las cifras medias de los ocho experimentos de 18 y 17 mgs.%, que indican claramente que el contenido en glicosa de la sangre que sale del riñón, es mayor que el de la sangre que en él entra. En otras palabras: el riñón está produciendo continuamente glicosa, en cantidad bastante notable, que pasa a la circulación general.

### 3.- EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE GLICOSA SOBRE LAS DIFERENCIAS ARTERIO-VENOSAS EN EL RIÑÓN.-

Asegurado el hecho, últimamente expuesto, de que el riñón está continuamente produciendo glicosa, hemos querido estudiar el efecto que sobre este fenómeno, tienen

la hiperglicemia y la hipoglicemia provocadas.

Lo primero, ha sido observado en 3 perros, en las mismas condiciones de anestesia, ayuno, etc., que tenían los animales anteriores. Además, después de la toma basal, a todos ellos se les inyectó en la vena femoral 1 grs. de glicosa por kilogramo de peso. Los resultados se recogen en la tabla IV.

**ACCION DE LA GLICOSA SOBRE LA DIFERENCIA ARTERIO-VENOSA.**

	eri to .-	icosa intra- venosa. Un gr/Kg. Muest. de sangre	Glicemia periferica. mgs. %		Glicemia venosa renal. mgs. %		Diferencia por 100 mgs.		Glicógeno mgs. %	
			Arteria	Vena	V.R.D.	V.R.I.	V.R.D.	V.R.I.	V.R.D.	V.R.I.
7		Antes.....	115	108	138	132	16	12		
		Minutos después 30:	164	164	143	133	-14	-23	30	33
		Antes.....	111	93	118	122	5	9		
		Minutos después 30:	206	225		166		-24		
8		Idem.: 60.....	109	115	101		- 7		29	31
		Idem.: 90 .....	106	100		129		17		
		Antes.....	92	87	97	106	5	13		
		Minutos después 30:	289	306		287		0,6		
		Idem.:.....60:	185	208		157		-17		
		Idem.: .....90:	122	128		139		12		

A estos animales se les había inyectado anteriormente insulina.

- 101 -

En estas experiencias, se <sup>/advierte</sup> ~~acenta~~ que en los momentos siguientes a la inyección del azúcar, la glicemia es mayor en la sangre de la arteria que en la de la vena renal, y que esta diferencia persiste o se acentúa a los sesenta minutos de la inyección. Parece como si el riñón fijase parte de la glicosa que existe en exceso en la circulación periférica. A partir de los noventa minutos de la inyección de glicosa, la situación inicial que exhibe el animal en ayunas, tiende a restablecerse, o sea que la glicemia en la sangre de la vena renal vuelve a ser mayor que la de la arteria. Esto es, el riñón ha dejado ya de fijar glicosa y, por el contrario, la suelta a la circulación general.

Las posibilidades en la interpretación de la conducta del riñón durante esta fase hiperglicémica no pueden ser mas que estas: la glicosa que entra es mayor que la que sale porque la diferencia es eliminada por la orina; la diferencia de azúcar entre la arteria y la vena renal, significa que la glicosa ha

sido quemada por el riñón; la glicosa en exceso de la arteria, es transformada en glicógeno por el riñón. La estimación de la glicosuria y el cálculo de la glicosa retenida por actividad circulatoria y diferencia arterio-venosa, prueban bien a las claras que la glicosuria no es suficiente, con mucho, para explicar la diferencia arteriovenosa. Por otra parte, el contenido en glicógeno de los riñones está sensiblemente aumentado. Por todo ello, no hay mas remedio que admitir que el riñón normal actúa de estabilizador de la glicemia, por su doble acción en el metabolismo hidrocarbonado, tomando glicosa para transformarla en glicógeno -no puede por ahora excluirse la posibilidad de que parte de la glicosa sea quemada- y soltando glicosa, una vez pasada la fase hiperglicémica, como lo hace normalmente en la fase interdigestiva.

**4.- EFECTO DE LA HIPOGLICEMIA INSULINICA SOBRE LAS DIFERENCIAS  
ARTERIO-VENOSAS EN EL RIÑON.-**

El efecto que ejerce la hipoglicemia sobre la producción de azúcar por el riñón, ha sido estudiado en 4 perros, cuyos azúcar ha sido determinado en la sangre periférica y en la de las venas renales. La anestesia, condiciones operatorias, etc. han sido iguales a las de los experimentos anteriores. Después de la toma basal, a cada uno de ellos se le inyectó intravenosamente 1 Unidad Internacional de insulina, por kilogramo de peso. En la Tabla V pueden verse los resultados.

**TABLA V.-**

**ACCION DE LA INSULINA SOBRE LA DIFERENCIA GLICEMICA ENTRE ARTERIA Y VENA RENAL.**

Experi- mento n°.-	Insulina in- travenosa 1 U.I./Kkg. Muest. de sangre.	Glicemia per- férica.- mgs.%. Arteria    Vena		Glicemia vena renal mgs.%. V. R. D./V. R. I.		Diferencia por 100 mg. V. R. D./V. R. I.		Glicógeno mgs.%. R. D.    R. I.	
		Arteria	Vena	V. R. D.	V. R. I.	V. R. D.	V. R. I.	R. D.	R. I.
5	Antes.....	116	102						
		118	100	132	128	11	8		
	Minutos después:30:	98	93	104		5			
	Idem.: 60:	88	95		90		2	24'8 (#)	24'8 (#)
6	Idem.: 90:	42	51	72	74	41	43		
	Antes.....	117	107	117	111	-			
	Minutos después 30:	80	79		80		-		
	Idem: 60:	72	69		75			29	38
7	Idem: 90:	65	62		60				
	Idem: 270:	33	34	36					
	Antes.....	115	108	138	132	16	12		
	Minutos después:30:	118	110		110		- 6		
8	Idem: 60:	92	91	97		5			
	Idem: 90:	74	78		80		7		
	Antes.....	111	93	118	122	5	9		
	Minutos d.90:	83	69	83		0			

\* El animal ha sufrido hemorragia en el curso de la operación  
 (#) Glicógeno en un homogenizado de los dos riñones.



El primer efecto de la insulina, se traduce en la disminución o inversión de las diferencias glicémicas entre la arteria y la vena renales.

Cuando posteriormente se produce ya una hipoglicemia marcada y evidente, se observa de nuevo el aumento de la glicemia venosa, que puede ser hasta de 43 mgs. por ciento.

Este grupo de experiencias, revela que por la acción de la insulina, en los primeros momentos se acentúa la glicogenopoyesis o que al menos se retiene glicosa en el riñón. Durante la fase hipoglicémica, el riñón contribuye a la restauración del nivel glicémico, por una glicogenolisis o por una neoglicogenia, que permite la suelta de glicosa del riñón a la sangre.

Estos hechos están de acuerdo con los que tienen lugar en la fase hiperglicémica. Si en ésta la glicosa es retenida por el riñón, durante la hipoglicemia, este órgano aumenta la cantidad de azúcar que normalmente vierte en la sangre periférica.

**5.- EFECTO DE LA NEFRECTOMIA SOBRE LA HIPERGLICEMIA PROVOCADA.**

Hemos querido ver como respondían los animales a la provocación de la hiperglicemia, cuando se encuentran sin riñones. Para ello, se tomaron doce ratas adultas, de la colonia del Instituto. Todas ellas eran hembras de alrededor de un año de edad y con diferencias de peso de una a otra, en ningún caso superior a 10 gramos. Desde tiempo atrás, todos los animales estuvieron a la dieta de la colonia. Dieciséis horas antes de la experiencia, se les retira la comida, dejándoles beber agua "ad libitum". En el momento de la experiencia, se divide a los animales en dos lotes. A uno de ellos -grupo testigo-, se le hace una operación figurada, llegando a los riñones por vía abdominal y aislándolos, después de cuya manipulación, sin extirparlos, se sutura la herida como en los operados. En éstos, que integran el grupo de los nefrectomizados, se hace lo mismo, pero extirpando rápidamente

los riñones. Todas las operaciones se han llevado a cabo con anestesia etérea, recibiendo los animales cantidades equivalentes de éter (0,1 -0,12 c.c. de éter por gramo de peso). Después de la intervención se dejan reposar durante cuatro horas, al cabo de las cuales se procede a la toma de sangre del rabo. A todos los animales se les inyectó intraperitonealmente 2'5 gramos de glicosa por kilogramo de peso.

En la Tabla VI se ven los resultados obtenidos.

**TABLA VI.-**  
**EFFECTO DE LA NEFRECTOMIA SOBRE LA HIPERGLICEMIA PROVOCADA.-**

Rata	Grupo Glicosa intra- peritoneal: 1.5 gr./kg.	G L I C E M I A				
		Antes	A los 30 minutos.	A los 60 minutos.	A los 90 minutos.	A los 100 minutos.
1.....	Testigo.....	121	-	152	161	-
2.....	Idem.....	117	-	-	-	-
3.....	Idem.....	111	-	142	134	-
4.....	Idem.....	125	-	-	-	-
5.....	Idem.....	108	-	-	-	-
6.....	Idem.....	111	-	170	148	-
1.....	Nefrectomia.	149	163	137	138	135
2.....	Idem.....	156	182	-	-	-
3.....	Idem.....	174	178	-	-	-
4.....	Idem.....	158	179	177	-	-
5.....	Idem.....	155	183	176	140	137
6.....	Idem.....	135	161	151	-	-
<u>Cifras medias:</u>						
Grupo testigo.....		115	-	154	146	-
Grupo nefrectomia..		154	174	160	139	136

Donde se pone - no se pudo obtener sangre.

Esta experiencia no demuestra ningun distinto comportamiento de la curva de la glicemia después de la inyección intraperitoneal de glicosa, en los animales nefrectomizados, con respecto a los testigos.

La intervención de otros mecanismos reguladores, debe ser la causa de que la glicemia periférica en ausencia de riñones, no difiera fundamentalmente de la del animal intacto, al administrar glicosa a ambos.

#### 6.- EFECTO DE LA NEFRECTOMIA SOBRE LA HIPOGLICEMIA INSULINICA.

Si durante la hipoglicemia insulínica, el riñón interviene activamente en la restauración de la glicemia, soltando azúcar en la sangre ¿en que situación quedan los animales sin riñones frente a la hipoglicemia?. El estudio de este comportamiento ha sido el objeto de los siguientes experimentos.

Como en el estudio de la hiperglicemia provocada, se han

tomado ahora dos lotes de 6 rates adultas en las mismas condiciones. A uno de los grupos, se le efectúa la nefrectomía bilateral a cada animal, en tanto que a los del grupo testigo, se les hace solamente la intervención figurada. Las condiciones de ayuno, edad, sexo, diferencias de peso y anestesia, son las mismas que las de las experiencias anteriores. Como en estas, se dejan transcurrir cuatro horas desde la intervención hasta la primera toma de sangre. Después de esta, se inyectan a cada rata 1 U.I. de insulina, por vía subcutánea.

Los resultados obtenidos pueden observarse en la Tabla VII.

**TABLA VII.-**

**ACCION DE LA NEFRECTOMIA SOBRE LA HIPOGLICEMIA INSULINICA.-**

Rata	Grupo	G L I C E M I A				
		ntes y después de inyectar 1 U.I. de insulina a cada				
		ntes	A los 30 minutos	A los 60 minutos	A los 90 minutos	A los 120 minutos
1.....	Testigo...	-	-	-	-	-
2.....	Idem.....	180	-	53	-	28
3.....	Idem.....	219	-	69	-	36
4.....	Idem.....	4	-	71	-	19
5.....	Idem.....	131	-	55	-	23
6.....	Idem.....	144	-	64	-	31
1.....	Nefrectomia	110	59	Muriendo	-	-
2.....	Idem.....	89	52	-	Muerta	-
3.....	Idem.....	34	90	Muriendo	-	-
4.....	Idem.....	66	50	-	Muerta	-
5.....	Idem.....	2	62	-	Muerta	-
6.....	Idem.....	87	36	-	Muerta	-

Las ratas 1 y 6 del grupo testigo están muriendo a los ciento veinte minutos; el resto, bien.  
 En el grupo nefrectomía, todos los animales han muerto a los sesenta minutos.  
 No se pone - no se pudo obtener sangre.

El resultado que arroja esta tabla, es claro: todos los animales nefrectomizados, con la misma dosis de insulina, mueren con convulsiones entre los treinta y los sesenta minutos; en cambio los testigos, en los que solamente se hizo la intervención figurada, pero que conservaban sus riñones, siguen viviendo y solamente hay dos animales que a los ciento veinte minutos de haberles inyectado insulina, están en mala situación.

Los resultados anteriores deben significar que la presencia del riñón es fundamental en el mecanismo por el que los animales se recuperan de la hipoglicemia provocada por la inyección de insulina. Si faltan los riñones, en la rata hipoglicémica, se producen convulsiones y muerte. Puede afirmarse, por consiguiente, que el riñón protege contra el coma insulínico de la rata de una manera muy evidente y <sup>que</sup> esta protección no se debe realizar, sin duda, sino por una intervención metabólica que equilibre o amenigüe



la acción hipoglicémiente de la insulina.

Nos ha parecido de interés investigar mas de cerca el fenómeno de la resistencia de los animales nefrectomizados, a la hipoglicemia insulínica, ya que consideramos que los animales en estas condiciones, constituyen una prueba concluyente de la intervención del riñón en el metabolismo hidrocarbonado.

#### 7.- VARIACIONES GLICEMICAS Y REACCION A LA INSULINA EN PERROS NEFRECTOMIZADOS.-

Ante todo, hemos querido observar si en otros animales se producían los mismos efectos que en la rata, cuando estaban sin riñones en hipoglicemia. Hemos querido saber, también, que variaciones se introducían en la glicemia en otros componentes de la sangre, principalmente urea, en estas condiciones.

Para ello esta serie de experiencias, han sido llevadas a cabo en 7 perros normales adultos. Estos animales permanecen en

ayunas desde veinte horas antes de comenzar los experimentos. Cada uno de estos, se divide en dos partes: en el animal intacto y en el nefrectomizado, y en los dos, se observan cuidadosamente las mismas normas. En cada parte, después de la toma basal de sangre venosa periférica, se inyecta insulina intravenosa, 1 U.I. por kilogramo de peso y se hacen extracciones periódicas de sangre venosa. Pasadas dos horas después de la inyección de insulina, se inyectan en vena, 2 gramos de glicosa por kilo y a continuación se procede a hacer las tomas de sangre. La nefrectomía se hace después de veinticuatro horas, como mínimo, por vía abdominal. Para evitar los efectos de los anestésicos sobre la glicemia, la nefrectomía se hace con morfina y anestesia local (acetato de morfina, 0,01 gr./kg. novocaína al 2 %, 5-10 mls.). Después de la operación se deja reposar a los animales, al menos durante veinticuatro horas, permitiéndoles comer y beber a las cuatro horas de la intervención.

- 115 -

Los datos obtenidos en estos experimentos, se resumen brevemente en la tabla VIII.

VIII -

O DE LAS VARIACIONES GLICÉMICAS EN PERROS NEFRECTOMIZADO DE

Experimento n° 17

Glicemias mgs. %

	<u>INTACTO</u>	<u>NEFRECTOMIZADO</u>	<u>OBSERVACIONES</u>
sal	96	98	Tolera muy bien la insulina en el periodo previo. El animal nefrectomizado muere a los 70 minutos de haberle inyectado la insulina.
Insulina intravenosa: 1 U.I./kg.			
os 30 minutos	29	26	
" 60 "	20	23	

Experimento n° 18

sal	73	104	Tolera sin síntomas la prueba previa, pero nefrectomizado, muere a las dos horas de la inyección de insulina, con cuadro convulsivo.
Insulina intravenosa: 1 U.I./kg.			
los 5 minutos	51		
" 15 "	37	37	
" 30 "	30	38	
" 60 "	32,	28	
" 90 "		25	
" 120 "	25	22	

TABLA VIII (Continuación).-

Experimento n° 19

<u>INTACTO</u>		<u>NEFRECTOMIZADO</u>		<u>OBSERVACIONES</u>		
<u>GLICEMIAS</u>		<u>GLICEMIAS</u>			<u>UREMIAS</u>	
<u>H.J.</u>	<u>S.H.</u>	<u>H.J.</u>	<u>S.H.</u>		<u>mg. %</u>	
Basal .....	121	103	112	80	168	Tolerancia normal el día previo. En el nefrectomizado, a los 30 minutos de la insulina, convulsiones y coma. Se inyecta glicosa y momentáneamente el animal se rehace, pero espontáneamente a las tres horas vuelve al coma y muere.
→ Insulina intravenosa: 1 U.I./kg.						
A los 5 min:	60		82			
" " 10 "	62		57		226	
" " 20 "	48		38			
" " 30 "	29 <sup>9</sup>	23	30		182	
" " 60 "	27	23				
" " 90 "	34					
" " 120 "	67	54				
→ Glicosa intravenosa: 2 gr./kg.						
A los 5 min:			204			
" " 30 "			<del>57</del>			
" " 60 "			36		177	

## VIII (Continuación)

- 113 -

Experimento n° 20

	<u>I N T A C T O</u>			<u>N E F R E C T O M I Z A D O</u>			
	<u>Glicemias</u>		<u>Uremias</u>	<u>Glicemias</u>		<u>Uremias</u>	<u>Observaciones</u>
	<u>H.J.</u>	<u>S.H.</u>	<u>mg%</u>	<u>H.J.</u>	<u>S.H.</u>	<u>mg%</u>	
sal.....	91		88	118		261	Normal tolerancia previa. Se acorta el tiempo de in- yección de glicosa, para ver si se evi- ta el coma. No obs- tante a las 4 horas muere.
Insulina intravenosa: 1 U.I./kg.							
los 15 min.	64		71	83		283	
" 30 "	44		78	65			
Glicosa intravenosa: 2 grs./kg.							
los 15 min.	284	250	71	280	267	288	
" 30 "	210	193	70	213	218	275	

Experimento n° 22

	<u>I N T A C T O</u>			<u>N E F R E C T O M I Z A D O</u>			
	<u>H.J.</u>	<u>S.H.</u>	<u>Uremias</u>	<u>H.J.</u>	<u>S.H.</u>	<u>Uremias</u>	
sal .....	107		83	87		300	El día previo, tolera normalmente la insulina. Después de la nefrectomía, a los 60 minutos de la insulina, intenso cuadro hipoglucémico que de momento se conjura con glicosa, pero la glicemia no asciende y el animal muere 70 minutos mas tarde.
Insulina intravenosa: 1 U.I./kg.							
los 15 min.	98		54				
" 30 "	55		59,4	28		344	
" 60 "	64		54,5			324	
Glicosa intravenosa: 2 grs./kg.							
los 5 min.	105		52,5	21		336	
" 30 "	65		61	28		350	

ANLA VIII (Continuación)

Experimento n° 26

I N T A C T O

	Glicemias H.J. Mgs.%	Uremias mgs. % B NaBrO	Unidades xantopro- teicas.	Lípidos totales mgs. %.	Proteínas totales mgs. %	Fósfo inorgá nico	O CI s p e m . tolerados.
Basal.....	92 87	49'7 43'9	25	730	6'000	6'1	
→ Insulina intravenosa: 1 U.I./kg.							
A los 30 min.	57 57	53'5 48'9	25	700	5'550	4'1	
" " 60 "	33 37	68'9 52'1	24'6	820	5'350	2'8	
→ Glucosa intravenosa: 2 gr./kg.							
A los 5 min.	322 311	63,9 55'1	21'55	620	4'500	3'3	
" " 30 "	134 126	56,5 55,3	23,2	800	5,150	4,6	
" " 60 "	100 107	54,7 52,1	22,0		5,500	5,1	
" " 90 "	89	57,4 46'8	18'0		5'700	5'4	

Experimento n° 26 (Continuación)

NEFRECTOMIZADO

	Glicemias H.J.	Uremias mg. % B. NaBrO		Unidades xantoproteicas.	Proteínas Totales	Fósforo inorgánico.	Observaciones
Basal....	120 120	314	330	64,0	5,450	7,5	Cuadro convulsivo a los 60 minutos de la inyección de insulina. Se rehace con glicosa, pero muere a las 72 horas, probablemente de uremia.
→ Insulina intravenosa: 1 U.I. /kg.							
A los 30 m.	65 56	335	330	57,6	5,300	5,9	
A " 60 "	36 36	357	323	64,6	5,200	4,6	
→ Glicosa intravenosa: 2 grs./kg.							
A los 5 m.	277 281	342	327	59,6	4,200	5,8	
A " 30 "	213 203	353	334,6	64,0	4,800	6,3	
" " 60 "	144 150	360	338,4	64,6	5,000	6,5	
" " 90 "	63	371					



TABLA VIII.- (Continuación).-

Experimento n° 27

I N T A C T O

I N T R A C T O								
Glicemias H.J. S.H.		Uremias B. NaBrO		Unidades xantoppro- teicas	Proteínas totales	Fósforo inorgá- nico	Observaciones	
Basal.....	88 84	70	73	65	22'2	5'050	5'1	Nada anormal durante este período pre- vio.
→ Insulina intravenosa: 1 U.I./kg.								
A los 30 m.	60 56	51	75	66	20'2	4'65 0	2'4	
" " 60 m.	42 38	36	79	71	18,4	4,550	2,2	
→ Glicosa intravenosa: 2 gr./kg.								
A los 5 m.	289 290		68	74	17'6	4'500	2'1	
" " 30 m.	174 178		67	76	18'0	4'600	2'6	
" " 60 m.	84 84		78	71	18'0	4'900	3'0	
" " 90 "	75 73		66	63	16'6	5'200	3'7	

Experimento n° 27 (Continuación).

NEFRECTOMIZADO

	Glicemias		Uremias		Unidades	Proteínas	Fósforo	Observacio- nes.
	H.J.	S.H.	B	NaBrO	xantopro- teicas.	totales	inorgá- nico.	
Basal....	94 92	85	218	231	61°4	7°100	8°8	A los 60 minutos convulsiones y cuadro hipoglucémico que desaparece con la in- yección de glucosa. El animal muere tres días más tarde, probablemente de uremia.
→ Insulina intravenosa: 1 U.I./kg.								
A los 30m.	24 20	20	207	227	69°6	6°750	7°2	
" " 60"	22 20	16	218	223	74°4	6°200	7°2	
→ Glucosa intravenosa: 2 gr./kg.								
A los 5m.	303 304		226	239	61°2	4°700	6°9	
A " 30"	125 129		209	251	71°0	6°150	7°9	
" " 60"	56 56		228	235	68°6	6°800	8°0	
" " 90"	39		241					

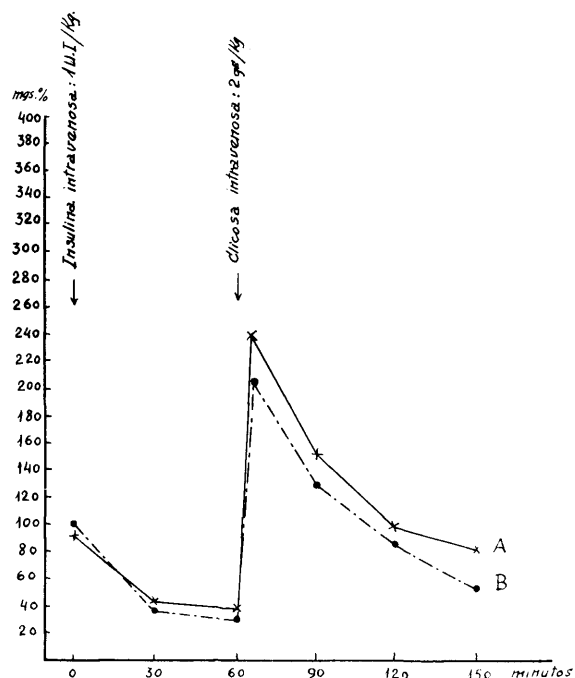
- 121 -

Las cifras medias, han sido consignadas en la Gráficas III,  
IV y V.

Gráfica III

A: Glicemia en perros intactos.

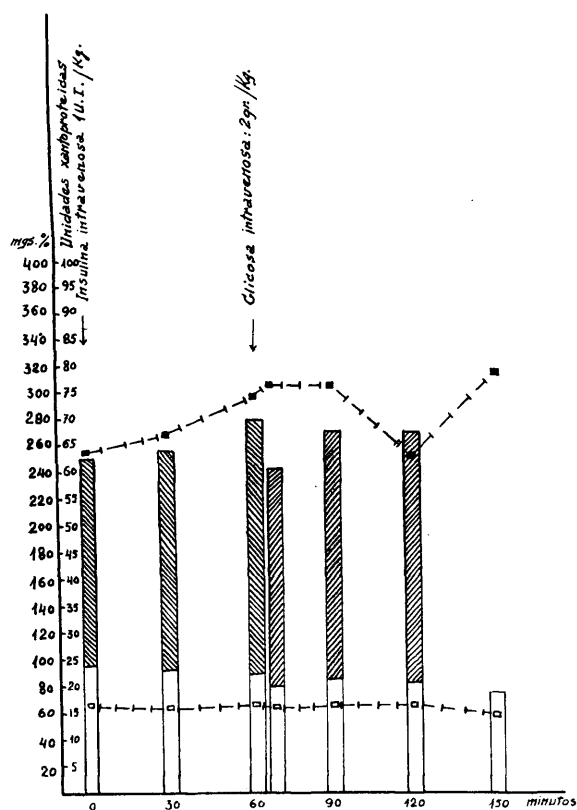
B: Glicemia en perros a las 24 horas de la nefrectomía.



Variaciones de la glicemia por inyecciones de insulina y de glucosa en perros, a las 24 horas de la nefrectomía bilateral. Cifras medias de 7 perros.

Gráfica IV.-

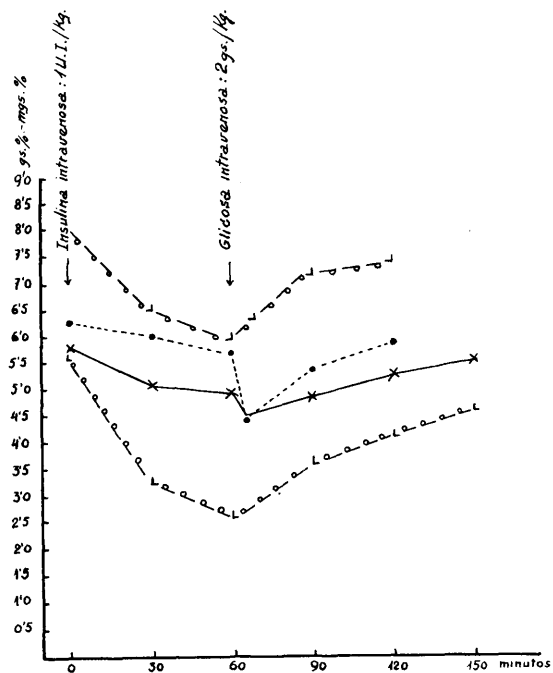
- □ □ □ □: Uremia en perros intactos; mgs. %.
- ■ ■ ■ ■: Uremia en perros nefrectomizados; mgs. %.
- ||: Unidades xantoproteicas en perros intactos.
- ///: Unidades xantoproteicas en perros nefrectomizados.



Efecto de las variaciones de la glicemia en los perros de la tabla VIII. Cifras medias.

Gráfica V.-

- x — x — x: Proteínas en sangre en  
perros intactos; grs. %.
- .....: Proteínas en sangre en  
perros nefrectomizados;  
grs. %.
- o o o o o: Fósforo inorgánico en  
perros intactos; mgs. %.
- > > > >: Fósforo inorgánico en  
perros nefrectomizados;  
mgs. %.



Efecto de las variaciones de la glicemia en los perros  
de la Tabla VIII.- Cifras medias.

Durante la primera parte de la experiencia, en el animal intacto, ninguno de los animales en hipoglicemia, o en hiperglicemia, exhibe manifestación externa alguna de anormalidad. En cambio la misma experiencia en el perro al día siguiente de la nefrectomía, ofrece un resultado muy diferente; la misma dosis de insulina que no producía síntomas en el animal intacto, dan lugar ahora a náuseas, hiperexcitabilidad refleja y dilatación de la pupila primero; luego el perro es incapaz de sostenerse sobre sus patas, la respiración se hace poco frecuente y muy profunda, y finalmente en un espacio de tiempo entre los 30 minutos y las dos horas de haber inyectado insulina, aparecen convulsiones, el animal derribado estira fuertemente sus patas y la cabeza se coloca en opistótonos muy pronunciados. En cinco de estos animales, a continuación, sobrevino la muerte en este estado hipoglucémico; en otros dos, con fuertes convulsiones, la inyección intravenosa de glicosa, in-

pidió entonces la muerte, que tuvo lugar en uno, dos días, y en el otro tres días mas tarde.

Las diferencias en las hipoglicemias, no puede decirse que sean, en muchos de los experimentos lo suficientemente intensas en los nefrectomizados, en relación con los animales intactos, y sin embargo, es bien manifiesto que la tolerancia a estas hipoglicemias es muy diferente en los perros intactos que en aquellos que han perdido sus riñones.

Para continuar las experiencias, era necesario saber si pasado mas tiempo de veinticuatro horas después de la nefrectomía, los animales se comportaban o de la misma manera, o si por el contrario su conducta era diferente. Por consiguiente, hemos realizado los mismos experimentos que antes, con tres perros en los que la segunda parte tiene lugar a las cuarentay ocho horas de haberles extirpado los riñones. Los datos obtenidos, se recogen en la **Tabla IX.**



**TABLE IX.-**

**EFFECTO DE LAS VARIACIONES GLICEMICAS SOBRE EL PERRO, A  
48 HORAS DE LA NEFRECTOMIA BILATERAL -**

### Experimento n° 29

**I N T A C T O**

	Glicemias H.J. mgs. %.	Uremias mgs. % B. NaHPO	Unidades kantopro- teicas.	Proteínas totales gr. %.	Fósforo inorgá- nico. mgs. %.	Observa- ciones.
Basal .....	73 75	65	63	27'4	8'450	4'05
→	Insulina intravenosa: 1 U.I. / kg.					
A los 30 m.	49 50	65	57'5	22'8	8'200	1'84
Id. 60 "	41 39	65	67'5	23'4	8'400	1'52
→	Glicosa intravenosa: 2 grs. / kg.					
A los 5 m.:	382 380	73	64'1		5'300	1'86
Id. 30 m.:	148 148	65	63	22'4	7'600	2'24
Id. 60 m.:	111 114	65	60'2	20'6	6'800	3'04
Id. 90 m.:	96 100	56	60'8	19'8	8'250	3'40

Experimento n° 29 (Continuación).

NEFRECTOMIZADO

	Glicemias		Uremias		Unidades	Proteínas	Fósforo	Observaciones.
	H.J.	S.H.	B	NaBrO	xantopro-	totales.	inorgá-	
					teicas.		nico.	
Basal.....	123 120	113	425	453*3	111*2	9*000	16*6	A los 90 minutos de la inyección de insulina, convulsiones, opistótonos. Muere cuando comenzábamos a inyectar la Glucosa.
→ Insulina intravenosa:					U.I./kg.			
A los 30m.	42 40	36	445	460	120*6	10*450	16*6	
" " 60m.	35 34	33	425	456*6	105*4	10*300	16*4	
" " 90m.	26 26	10		456*6	107	10*250	-	

TABLA IX (Continuación)

Experimento n° 30

I N T A C T O

	Glicemia H.J	S.H	Uremias B.	abro	Unidades xantopro- teicas.	Proteínas totales.	Fósfor inorgá nico	C.R. (1)	Obs ciones.	
Basal ....	84 84	80	61	51	20'2	7'200	4'11	0	No se observa nada anormal en el aspecto exterior del animal intacto.	
<hr/>										
		nsul	a i	trav	osa: 1	.I./ kg.				
A los 30' minutos.	45 43	40	64	48'	20'8	7'650	1'72			
Id. 60' minutos.	21 21	20	62	47'	21'4	7'300	2'06			
Id. 90 minutos	48 45	43	68'	55'	21'0	6'900	2'16			
<hr/>										
		Glic	i	trav	osa: 2	gs./ kg.				
A los 5 minutos:	292 299		70	46'	20'0	5'500	2'12			
Id. 30 minutos:	123 111		61	48'	18'6	7'250	2'48			
Id. 60 minutos:	197 117		60	46'	18'6	7'700	3'16			

(1).- Cociente respiratorio.

(1).- Cociente respiratorio.

Experimento n° 30.- (Continuación)

NEFRECTOMIZADO

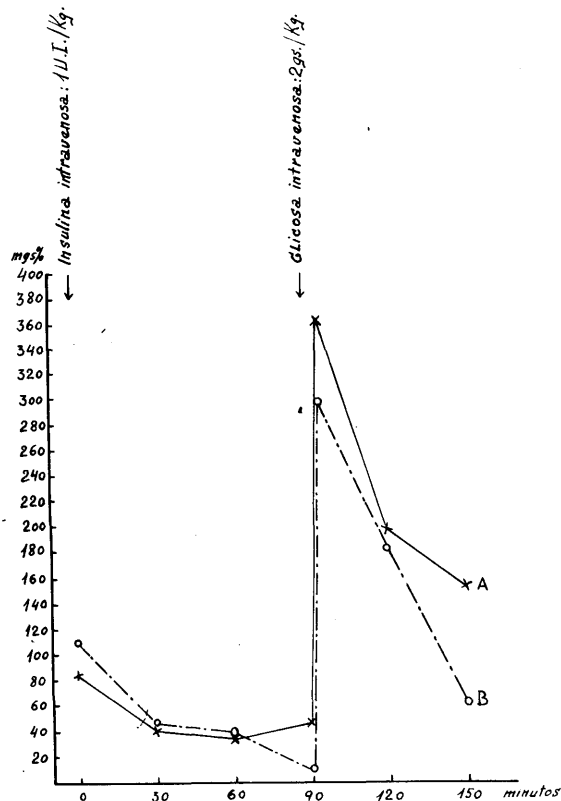
	Glicemias H.J. S.H.	Uremias B. NaBrO	Unidades xantopro- teicas.	Proteínas totales.	Potasio inorg. (1) Ricc.	O.R.	Observa- ciones.	
Basal.....	123 119	115	370	81'2	8'500	12'5	0'000	
Insulina intravenosa: 1 U.I./ kg.								
A los 30 minutos...	45 43	45	412 450	78'8	8'700	12'0	A los 60 minutos de la inyección de insulina, convulsiones muy violentas. Se rehace con Glucosa, pero unas ho- ras después muere en hipoglicemia en la que se espontáneamente.	
Id. 60 id:	56 34	35	402 425	75'2	8'700	12'0		0'756
Glucosa intravenosa: 2 grs./kg.								
A los 5 mi- nutos:	285 291	333	398		4'800	12'5		
Id. 30 id.:	172 184	208	406 466'6	66'4	6'550	12'5		
Id. 60 id.:	59 57	48	452 475	70'2	7'750	12'04		
Id. 90 id.:	27 29	10	412	85	8'500	12'5		

(1).- Cociente respiratorio.

- 128 -

Con las cifras medias se ha construido la Gráfica VI, VII y VIII.

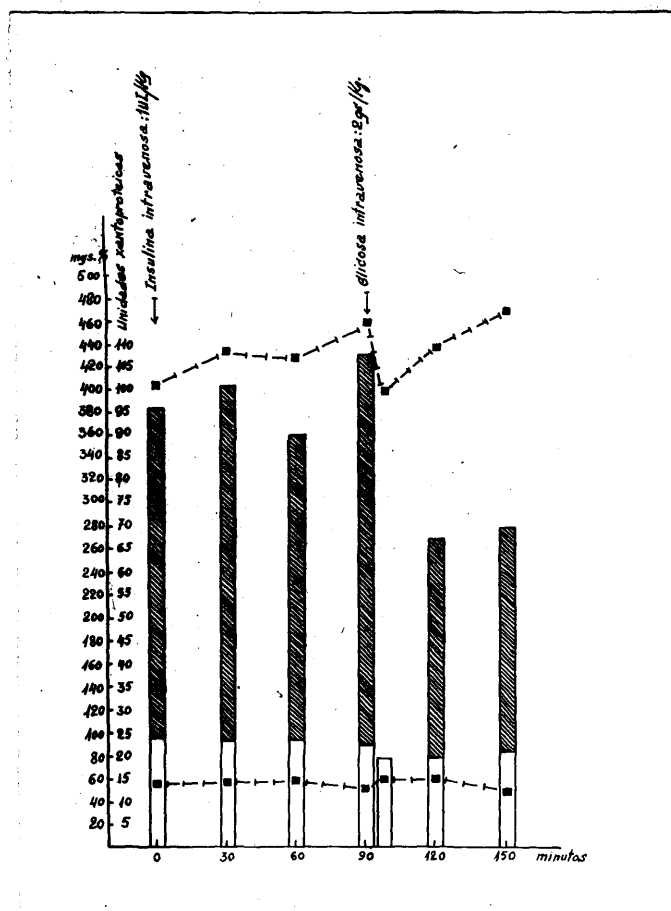
Gráfica VI.-



Variaciones de la glicemia, por inyección de insulina y de glicosa, en perros a las 48 horas de la nefrectomía bilateral. Cifras medias. Las cifras en los nefrectomizados, a partir de los 90 minutos corresponden a un solo perro. Los otros, pueren con cuadro hipoglicémico, antes de dar tiempo a inyectar glicosa.

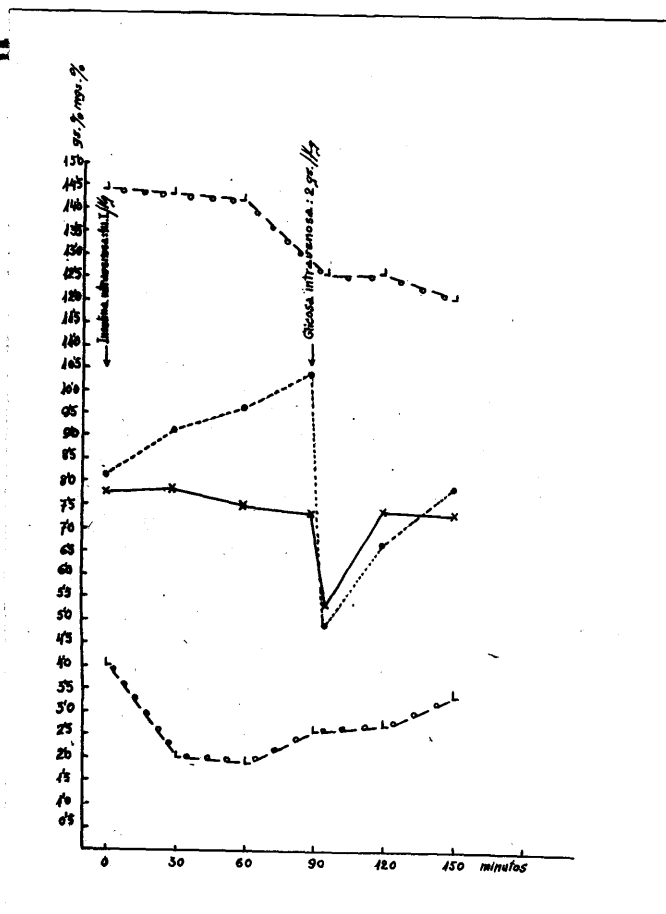
Signos como en la Gráfica III.

rica VII -



Efecto de las variaciones de la glicemia en los perros de la Tabla IX.- Cifras medias.  
Signos como en la Gráfica IV.

Gráfica VIII.-



Efecto de las variaciones de la glicemia en los perros de la  
Tabla IX.- Cifras medias.

Signos como en la Gráfica IV.



Como puede verse, el fenómeno es totalmente confirmado en los perros que llevan cuarenta y ocho horas después de nefrectomizados. En uno de estos perros, el del experimento n° 30, ocurre además el mismo fenómeno que tuvo lugar en dos de los perros que se indican en la tabla VIII, es decir que el animal, recuperado momentáneamente por la inyección de glicosa, vuelve a caer en hipoglicemia espontánea. El comportamiento de estos animales sin riñones es similar al tan conocido de los perros después de la hepatectomía total.

**8.- COMPARACION DE LOS EFECTOS DE LA LIGADURA DE URETERES DE LA NEFRECTOMIA.-** Es evidente que el perro sin riñones, es incapaz de resistir dosis de insulina que al normal no producen sino las variaciones conocidas en su curva de glicemia. Establecidos estos hechos, necesitábamos saber si aquella condición en que caen los perros sin riñones a los que se les provoca hipoglicemia, era producida como consecuencia de un mecanismo de retención (uremia n

otros) o intrínsecamente porque la presencia de los riñones fuese necesaria para evitar el ~~shock~~ shock.

Con este objeto hemos comparado el efecto de la insulina en los perros anteriores nefrectomizados a las 24 y a las 48 horas, con el que dosis y condiciones experimentales iguales, producen en animales, a los que en lugar de la nefrectomía, se les ligan ambos uréteres. Esta operación fué efectuada con la misma anestesia, etc. en que se hacía la nefrectomía y la ligadura, confirmada siempre en la autopsia. Los resultados de dos perros, se indican en la Tabla X.

**TABLA X.-**

**EFEECTO DE LA LIGADURA BILATERAL DE LOS URTEROS**

Experimento n° 33.-

**I N T A C T O**

	Glicemias mgs. %		Uremias mgs. %		Unidades xantopro- teicas.	Proteí- nas to- tales.	Fósfo- ro i- morg.	Calcio mgs. %	Observa- ciones.	
	H.J.	S.B.	B.	NaBrO						
Basal .....	83 84	73	79	55'1	22'4	6'050	5'4	12'8	Ninguna manifestación anormal.	
Insulina intravenosa: 1 U.I./kg.										
A los 30 min.	52 50	40	72	40'4	20'6	6'400	3'2			
" " 60 "	40 41	33	64	51'0	17'0	6'500	2'8			
" " 90 "	52 57	50	66	43'9	16'0	6'300	2'7	12'8		
Glucosa intravenosa: 2 gms./ kg.										
A los 5 min.	385 392	385	68	46'8	13'8	3'800	2'8	9'5		
" " 30 "	194 194	210	65	46'8	15'4	5'400	3'9	11'1		
" " 60 "	153	155	70	47'8	17'2	5'500	3'7	11'4		

**Experimento n° 33.-**

**A LAS 24 HORAS DE LA LIGADURA DE LOS URETERES**

	Glicemias		Uremias		Unidades	Proteínas	Fósforo	Caldo	Observaciones.	
	H.J.	S.H.	B.	NaBrO	centrográ teicas.	totales	inorgá nico.			
Basal...	107 107	93	194	166 <sup>5</sup>	61°0	7°00	7°2	9°3	El perro tolera perfectamente la experiencia.	
Insulina intravenosa: 1 U.I./kg.										
A los 30m.	52 52	46	200	175°0	51°4	6°750	6°8	9°1		
" " 60"	43 48	40	208	181°2	48°8	5°900	6°5	10°4		
" " 90"	43 40	53	214	168°7	49°6	6°550	6°6	10°4		
Glucosa intravenosa: 2 gr./kg.										
A los 5m.	385 262		260		50°2	4°900	6°8	9°0		
" " 30m.	167 171		258		56°2	5°650	7°6	10°0		
" " 60m.	125 125		260		56°0	6°300	7°6	10°5		

**TABLA X.-(Continuación).-**

**Experimento n° 34 (INTACTO)**

	Glicemias		Uremias		Unidades	Proteínas	Fósforo	Cal:1	Obs	
	H.J.	S.H.	H.	Nakro	xantopro- teicas.	totales.	inorgé- n'c		vací- n s	
Basal....	94 92	80	37	38	12'0	5'650	6'4	12'0	Ningún síntoma tiene lugar.	
Insulina intravenosa: 1 U. I./kg.										
A los 30m.	30 30	26	35'8	34	10'8	6'650	2'8			
" " 60m.	42 47	40	35'8	32	10'7	6'550	3'0	11'7		
" " 90m.	49 49	40	36'8	34	15'2	6'700	2'9	12'8		
Glucosa intravenosa: 2 gr. / kg.										
A los 5 m.		659	37	37	16'8	4'800	2'6	10'8		
" " 30 m.	265 261	305	35'8	33	14'4	4'250	3'5	11'6		
" " 60 m.	174 178	160	36'8	36	14'0	6'100	4'2	12'5		

(Experimento n° 34 - Continuación)

A LAS 48 HORAS DE LA LIGADURA DE LOS URETERES

	Glicemias H.J.	S.H.	Uremias B.	Unidades xantopry- teicas.	Proteínas totales	Índice inorg- nico.	Calcio	Observa- ciones.
Basal .....	111 111	94	322	84	6'800	8'8	9'8	No hay síntoma alguno apreciable
Insulina intravenosa: 1 U.I./kg.								
A los 30 m.	36 32	18	326	82'4	5'900	8'0	10'4	
" " 60 m.	38 38	20	326	73'2	6'850	8'4	10'8	
" " 90 m.	30 32	16	345	84'0	6'700	8'4	10'5	
Glucosa intravenosa: 2 grs./ kg.								
A los 5 m.		680	345	79'8	4'600	8'4	9'0	
" " 30 "		520	322	78'4	5'450	8'8	8'7	
" " 60 m.	382 385	375	322	85'4	5'800	8'8	9'7	

- 136 -

La evolución de la glicemia, etc., en los días de supervivencia puede verse en la Tabla XI.

**TABLA XI.-**

**EVOLUCION DE LOS PERROS CON LIGADURA BILATERAL  
DE URETERES.- CIFRAS BASALES.-**

**Perro n° 33**

	Glicemias		Uremias		Unidades	Proteínas	Fósforo	Calcio
	H.J.	S.H.	B.	NaBrO	xantopro- teicas.	totales.	inorgá- nico.	
<b><u>INTACTO:</u></b>	83 84	73	79	53'1	22'4	6'050	5'4	12'8
<b><u>LIGADO</u></b>								
A las 24 h.:	107 107	93	194	166'8	61'0	7'000	7'2	9'3
A las 48 h.:	165 165	153	312	277	77'2	6'600	8'6	11'2
A las 72 h.:	160							



TABLE XI.- (Continuación)

Perro n° 34

	Glicemias		Uremias		Unidades	Proteínas	Fósforo	Calcio
	H.J.	S.H.	B.	NaBrO	xantopro-	totales	inorgá-	
					teicas.		nico.	
<u>INTACTO</u>	94 92	80	37	38	12'0	6'550	6'4	12'2
<u>LIGADO</u>								
A las 24 h.	103 103	90	186					
A las 48 h.	111 111	94	322		84	6'800	8'8	9'8

este perro muere a las 70 horas de la ligadura de uréteres.

Podemos, pues decir, que en estos perros con los uréteres ligados y uremias altas, no tiene lugar la hipersensibilidad a la insulina, que exhiben los diez perros nefrectomizados de las Tablas VIII y IX. En estos últimos la hipoglicemia insulínica difiere poco de la que se produce antes de la operación. Sin embargo, la misma cantidad de insulina que antes de la operación es bien tolerada, provoca en el perro nefrectomizado la muerte con cuadro hipoglicémico. En los perros con los uréteres ligados, por el contrario, la conducta es semejante antes y después de la operación. Para que tengan lugar las manifestaciones hipoglicémicas que conducen a la muerte, es necesaria la ausencia de los riñones y no basta simplemente que estos dejen de eliminar orina.

9.- EFECTO PROMOTOR POR EXTRACTO RENALES.- Si los animales nefrectomizados, muestran por la inyección de insulina un marcado cuadro hipoglicémico y muerte, y si nada de esto sucede en los animales intac-

tos o con los uréteres ligados, es que en el riñón debe de existir algo que actúa protegiendo al animal contra las convulsiones y muerte hipoglicémicas. De aquí que hayamos querido saber si algunos extractos renales, actúan sobre estas manifestaciones hipoglicémicas del animal nefrectomizado e inyectado con insulina.

a).- extracto glicerinado.- Han sido probados dos tipos de extractos de riñón. Para la preparación del primero de ellos la páncrea cortical de riñones de perros recién extirpados, es desmenuzada a tijera y luego con igual peso de glicofina, machacados en un mortero con arena, durante media hora, al cabo de la cual se deja todo durante varios días. En el momento de ser usado el extracto, se recoge el líquido que sobrenada después de sometido a centrifugación (2.000 revoluciones por minuto).

La acción de este extracto, en 5 perros en las mismas condiciones que los anteriores, nefrectomizados bilateralmente, con la misma

- 141 -

anestesia e iguales técnicas, se muestra en la Table XII.

**TABLA XII.- EFECTO DE UN EXTRACTO GLICERINADO DE RIÑON, SOBRE EL PERRO NEFRECTOMIZADO E INSULINIZADO.**

**Experimento n° 38 (INTACTO)**

Glicemias		Uremias		Unidades mantopro- teicas.	Proteínas totales.	Fósforo inorgá- nico.	Cal cio	Observa- ciones.
H.J.	S.H.	B.	NaBrO					
Basal...	97 95	106	32'2	33'0	22'0	5'850	6'6	12'3
Insulina intravenosa: 1 U.I/Kg. (Extracto E.H.: 0.25 gs. de riñón/ kg.)								
A los 30 minutos.	30 30	48	27'0	34'0	18'0	5'800	4'2	12'3
A los 60 minutos.	39 39	46	28'0	35'0	19'6	6'150	4'0	12'2
A los 90 minutos.	29 29	48	28'0	37'0	18'0	5'800	4'6	12'2
Glucosa intravenosa: 2 gs./ kg.								
A los 5 minutos		700	31'8	37'0	15'0	3'900	4'0	10'3
A los 30 minutos.	131 131	175	30'0	33'0	13'2	4'250	5'1	11'8
A los 60 minutos.	97 95	115	24'6	42'0	13'2	5'850	5'9	9'2

Nada anormal

Glicemias		Uremias		Unidades Xantoproteicas.	Proteínas totales.	Fósforo inorgánico.	Calcio	Observaciones.
H.J.	S.H.	B.	NaBrO					
116 116	100	287	337'8	68'0	7'000	9'2	11'5	No se puede apreciar síntoma alguno en la conducta del animal durante esta parte de la experiencia.
Insulina intravenosa: 1 U.I./kg. más						extracto de riñón	Renal: 0'25 grs/kg	
46 46	36	282	335'4	85'4	6'960	8'0	11'3	
38 37	26	312	317'6	78'1	7'150	6'8	11'3	
46 46	26	273	341'1	75'0	7'150	8'2	10'7	
Glicosa intravenosa: 2 grs/kg.								
	460	285	335'3	72'0	4'700	8'4	8'8	
278 270	260	287	335'3	74'5	5'800	8'3	9'5	
201 201	165	296	335'3	74'2	6'400	8'2	12'1	

TABLA XII.- (Continuación) Experimento n° 36

N T G

	Glicemias H.J	U S.H.	as B.	as Na	Unidades xant teicas	Prote totales.	Matro inorgá	Calcio	C.R. Ob (#) vaci	
Basal..:	68 68	63	35	27°	14°5	7°450	6°0	12°3	0°731 0°733	Nada anormal
Insulina intravenosa: 1 U.I./kg. más E.R.(#): 0°25 gs.de riñón/kg.										
A los 30 min.:	42 38	23		40	36°5	16°6	6°750	4°8	11°8	
Id. 60 min.:	49 49	50		42	44°2	15°6	6°200	5°0	10°3	
Id. 90 min.:	63 63	70		44	46°1	15°0	6°150	4°3	8°3	
Glicosa intravenosa: 2 grs./kg.										
A los 5 min.:		680		55	48°0	12°4	3°000	5°6	8°8	
Id. 30 min.:	310 310	375		49	41°3	14°5	5°050	5°4	12°1	
Id. 60 min.:	162 160	150		41	44°2	15°0	6°300		775	

) E.R.: Extracto renal.- C.R.: cociente respiratorio.

Experimento n° 36 (Continuación)

A LAS 24 HORAS DE LA NEFRECTOMIA BILATERAL

	Glicemias		Uremias		Unidades	Proteínas	Fósforo	Sodio	C.R.	Observaciones.
	H.J.	S.H.	B.	Nakro	xantop- bilas	-totales	inorgá- nico.			
Basal.....	107 107	83	308	285	98	7'000	6'9	10'2	0'657	
→ Insulina intravenosa: 1 U.I./kg. más K.R.: 0'25 grs. ribón/kg.										
A los 30mi- nutos.....	42 42	36	314	304	90'4	6'150	8'0	10'6		A los 80 minutos, convulsiones muy violentas y muerte 3 minu- tos más tarde.
Id. 60 "	33 30	20	308	300	82'2	6'450	9'4	10'5		



TABLA XII (Continuación) Experimento n° 37

I N T A C T O

	Glicemias		Uremias		Unidades	Proteínas	Fósforo	Calcio	C.R.	Obser-	
	H.J.	S.H.	B.	NaBrO	xantopro-	totales.	inorgá-			va-	
					teicas.		nico.			siones	
Basal....	96 96	100	312	213	17'5	8'550	5'2	12'1	0'676 0'622 0'682		
	Insulina intravenosa: 1 U.I/kg.más E.R.: 0'25 gs.x1										
A los 30 minutos..	59 58	46	300	218	21'6	8'350	3'0	13'0	0'681	La prueba es resistida sin alteraciones manifestadas de intolerancia.	
Id. 60 minutos..	34 34	33	290	228	21'2	8'150	2'9				
Id. 90 minutos..	43 47	46	308	220	20,0	8'100	2'8	13'1	0'714		
	Glucosa Intravenosa: 2 gs./kg.										
A los 5 minutos..		670	303	218	19'5	5'400	3'1	10'0	0'793		
Id. 30 "	307 307	280	311	220	21'6	6'600	3'5	11'4	0'766		
Id. 60 "	232 228	228		209	19'5	7'800	3'2	12'6			

Experimento n° 37.- (Continuación).-

A LAS 24 HORAS DE LA NEFRECTOMIA BILATERAL.- (#).

	Glicemias		Uremias		Unidades	Proteínas	Fósforo	Calcio	C.R.	Observaciones.	
	H.J.	S.H.	B.	NaBrO	xanto- proteínas	totales	inorgá- nico.				
Basal....	94 96	110	520	548	92°0	8°050	7°6	12°3	0°643	Antes de comenzar esta 2ª parte, el perro encuentra en mal estado general. A pesar de ello, durante toda la exp. no tiene convulsiones ni ningún síntoma de anomalía.	
→ Insulina intravenosa: 1 U.I./kg. más E.R.: 0°5 gr. riñón/kg.											
A los 30 minutos:	28 31	28	465	527	90°6	7°700	6°0	13°4	0°809		
Id. 60 minutos:	30 30	26	460	555	91°0	8°800	6°5	13°5	0°767		
Id. 90 minutos:	32 36	26	480	572	89°8	8°600	7°3	13°2	0°686		
→ Glucosa intravenosa: 2 grs./kg.											
A los 5 minutos:		760	480	572	76°0	5°400	6°6	10°0	0°750		
Id. 30 minutos:		455	470	580	81°6	6°200	7°2	10°9	0°826		
Id. 60 minutos:	336 334	335	470	564	88°0	7°200	6°8	12°5	0°895		

(#).- Los riñones de este perro son muy grandes y congestivos; la corteza aparece pálida. El estudio histológico permite apreciar degeneración grasa de la corteza.

**TABLA XII.- (Continuación).**

**Experimento n° 38**

**I N T A C T O**

	Glicemias H.J.	Uremias S.H.	B.	BrO	nidades top	roteínas totales.	Fósforo inorgá- cas	Calcio	C.E.
Basal....	81 81	93	105	5	19'6	8'150	4'3	11'0	0'683
<p>→ Insulina intravenosa 1 U.I./ kgs. más E.R.: 0'5 gs. riñón/kg.</p>									
A los 30 minutos:	59 61	56	106	117	20'4	7'950	3'1	11'5	0'785
Id. 60 minutos:	54 54	43	110	119	18'5	9'000	3'1	12'0	0'531
Id. 90 minutos:	58 58	46	127	126	22'4	8'000	2'6	11'6	
<p>→ Glicosa intravenosa: 2 gs./kg.</p>									
A los 5 minutos:		380	127	107	17'2	5'700	2'3	9'0	
Id. 30 minutos:	186 182	160	120	110	16'0	7'200	2'5	1'5	
Id. 60 minutos:	133 130	140	112	117	14'8	7'300	2'6	0'3	

Experimento n° 38 (Continuación).-

A LAS 24 HORAS DE LA NEFRECTOMIA BILATERAL

	Glicemias		Uremias		Unidas		Proteínas	Fósforo	Calcio	C.R.	Observaciones.
	H.J.	S.H.	B.	NaBrO.	des	topro- teicas	totales.	inorgá nico.			
Basal.	93 96	80	344		63°0	7°050	10°8	10°2			Después de la inyección de insulina más E.R. muestra síntomas de intolerancia (vómito biliar, incapacidad de sostenerse sobre las patas e hiperexcitabilidad refleja). A los 60 minutos durante la extracción, convulsiones y después muerte.
→ Insulina intravenosa: 1 U.I./kg. más E.R.: 0°5 gs. ración/kg.											
A los 30 minutos:	39 36	26	332	326°9	57°2	7°100	8°8	10°9	0°827		
Id. 60 minutos:	29 32	29	364	331°4	66°6	7°350	7°7	11°3	0°763		

TABLA XII.- (Continuación)

Experimento n° 40

I N T A C T O

	Glicemias		Uremias	C.R.
	H.J.	S.H.	B.	
Basal .....	94 94	80	49	0'615
<p>—————→ Insulina intravenosa: 1 U.I./kg. más E.R.: 0'5 gs. riñón/kg.</p>				
A los 30 minutos :	56 56	50	47	0'708
Id. 60 id..... :	44 47	43	61	0'625
Id. 90 id..... :	46 47	46	58	0'564
<p>—————→ Glicosa intravenosa: 2 gs./ kg.</p>				
A los 5 minutos :		630	58	0'634
Id. 30 id..... :	315 315		54	0'648
Id. 60 id..... :	312 310		59	0'736

Experimento n° 40 (Continuación).-

A LAS 48 HORAS DE LA NEFRECTOMIA BILATERAL

	Glicemias		Uremias	C.R.	Observaciones
	H.J.	S.H.			
Basal .....	122 122	96	470	0'602	A las dos horas de la inyección de insulina más E.R. convulsiones y muerte.
→ Insulina intravenosa: 1 U.I./kg. más E.R.: 0'5 gr.rifón/kg.					
A los 30 minu- tos.....	53 53	30	450	0'670	
Id. 60 id.....	23 20	16	490	0'622	
Id. 90 id.....	16 19	10	470	0'657	

El exámen de la Tabla XII, nos indica que el extracto renal glicerinado, ha sido capaz de proteger contra el coma insulínico a los perros sin riñones de los experimentos 35 y 37, y que ha sido ineffectivo en los perros de los experimentos, 36, 38 y 40.

En la mayor parte de estas experiencias, ha podido seguirse el cociente respiratorio. Aunque las variaciones individuales son muy grandes, (lo atribuímos, principalmente, a la falta continua de reposo, interrumpido éste para hacer las extracciones de sangre), parece que no hay diferencia sensible en él por la nefrectomía, ni tampoco entre las variaciones que experimenta en el animal intacto y en el nefrectomizado.

**b).- Extracto acuoso.-** Ha sido preparado de la manera siguiente: Los riñones frescos, inmediatamente después de la nefrectomía, son decapsulados y machacados con suero fisiológico, a pH. 7,4, durante media hora en un mortero con arena, y completado con el mismo suero

- 148 -

a un volumen, doble del peso de tejido renal. Luego queda todo bajo tolueno en la nevera, durante varios días. Cuando va a ser utilizado se centrifuga y recoge el líquido que sobrenada.

Los resultados de la administración de este extracto a dos perros nefrectomizados e insulinizados, pueden apreciarse en la Tabla XIII.



**TABLA XIII.- EFECTO DE UN EXTRACTO ACUOSO DE RIÑON, SOBRE EL PERRO NEFRECTOMIZADO E INSULINIZADO.**

**Experimento n° 45**

**I N T A C T O**

	Glicemias		Uremias	C.R.	Observaciones
	H.J.	S.H.	B.		
Basal....	125 118	73	86	0'664	Perro en mal estado.(Ha tenido hemorragia al hacer la toma basal por haber tenido que preparar la vena femoral!).
→ Insulina intravenosa: 1 U.I. por Kg. más E.R.: 2 gs/kgs.					
A los 30 minutos:	51 51	23	96		
A los 60 minutos:	50 52	36	95		
A los 90 minutos:	63 60	40	94	0'719	A los 100 minutos(#.)
→ Glicosa intravenosa: 2 gs/kg.					
A los 5 minutos:		580	91	0'753	A los 20 minutos.
Id.30 m:		235	90	0'903	A los 50 minutos.
Id.60 m:		210	99		

(#.).- Estos tiempos, se refieren solo a las muestras de aire para el C.R.

Experimento n° 45.- (Continuación)

A LAS 24 HORAS DE LA NEFRECTOMIA

	Glicemias H.J.	Uremias B.	Observaciones
Basal .....:	98 98	350	Perro en muy mal estado al comenzar: hipopnea, pulso hipotenso, vómitos y diarreas. Después de la insulina más E.R. se acentúa este estado. A los 120 minutos convulsiones y muerte.
→ Insulina intravenosa: 1 U.I./kg. más E.R.: 2 gs./kg.			
A los 30 min.:	28 32	362	
Id. 60 fd....:	26 26	366	
Id. 90 fd....:	20 18	387	

TABLA XIII.- (Continuación)

Experimento n° 46

I N T A C T O

	Glicemias		Uremias	Histamina	Observaciones
	H.J.	S.H.	B.	Y /ml.	
Basal....:	119 123	93	59	0'024	Nada aparentemente anormal.
→ <u>Insulina intravenosa: 1 U.I./kg. más</u> <u>E.R. 1 gr./kg.</u>					
A los 30 minutos.:	50 50	43	67		
Id. 60 minutos.:	52 48	53	70	0'015	
Id. 90 minutos.:	45 45	40	70		
→ <u>Glicosa intravenosa: 2 gr./kg.</u>					
A los 5 minutos/		730	71		
Id. 30 minutos:	157 161	180	73	0'060	
Id. 60 minutos:	111 109	80	71		

Experimento n° 46 (Continuación)

A LAS 24 HORAS DE LA NEFRECTOMIA

	Glicemias		Uremias	Histamina	Observaciones
	H.J.	S.H.		r/ml.	
Basal ...	:130 136	103 103	208	Indicios	Nada aparente- mente anormal en el curso de las 4 horas si- guientes a la administración de la insulina más E.R.
→ Insulina intravenosa: 1 U.I. por kg. más E.R.: 1 gs./kg.					
A los 30 minutos:	36 36	30 30	280	Indicios	
Id. 60': minutos.	24 27	20 24	290		
Id. 90 minutos:	20 20	23 20	300		
Id. 120 minutos:	18	10	290	0'075	

En el perro del experimento 46, hemos querido observar el contenido de histamina en sangre por si el shock que se produce por la administración de insulina en el animal nefrectomizado, pudiese ser debido a aquellas sustancias. En este perro el extracto renal, ha protegido contra la aparición del cuadro convulsivo y por tanto, la concentración hemática de histamina, carece de significación; en todo caso, esta es tanto en el animal intacto como en el nefrectomizado, en cada momento de la experiencia, de magnitud poco considerable.

En el perro del experimento n° 46, nefrectomizado, hemos querido observar hasta que punto el extracto renal era capaz de proteger, por si mismo (es decir, sin contar la inyección de glicosa, como hemos hecho en otros experimentos) contra el cuadro hipoglicémico descrito. Y en efecto, hemos ~~partido~~ podido ver como en este animal, no se presenta ningun síntoma convulsivo durante las horas siguientes,

aún cuando se alcancen cifras tan bajas como de 10 migs. de glicosa por 100 mls. de sangre.

En resumen, en 5 perros nefrectomizados, tratados con extracto renal glicerinado, y en dos, con extracto renal acuoso, se logra protección contra el efecto de la insulina, ~~en~~ en tres. Si tenemos en cuenta la hipersensibilidad a la insulina en el total de los 10 perros nefrectomizados (Tablas VIII y IX), puede pensarse que quizás en estos extractos, exista algun principio activo que sea capaz de proteger al animal nefrectomizado e inyectado con insulina. Es posible que la falta de protección del extracto, observado en los otros experimentos, sea debido a que los extractos que hemos obtenido son aún demasiado groseros para obtener un efecto constante. En cualquier caso lo que consideramos indudable es que el riñón es indispensable para la defensa del organismo contra la hipoglicemia.

#### DISCUSION Y COMENTARIOS

---

La exclusión de los riñones, o la extirpación de los mismos, introduce tan pequeñas variaciones en la glicemia periférica, que estas están dentro del intervalo de la diferencia que se observa para el mismo animal de unos días a otros. Por eso consideramos que no pueden tomarse en consideración las divergencias entre NEUBAUER y POLLAK de que habla JUSTIN-BESANÇON (526), acerca de si sube o no, más la glicemia en los animales que han sido sometidos a la nefrectomía bilateral, que en aquellos otros en los que se han ligado los uréteres. Es un fenómeno que nosotros hemos observado en casi todos nuestros animales, el de que a partir del segundo día de la nefrectomía bilateral, la glicemia tiende a elevarse (Tabla II y Gráfica I). En otros perros nefrectomizados del Instituto de Investigaciones Médicas, ha podido ser observado el mismo fenómeno (GRANDE

y colaboradores). El aumento glicémico hacia el final de la vida, parece no ser solo de los nefrectomizados, sino también de los perros ligados de uréteres. En cambio creemos que no puede hablarse como lo hace GHOINSKI (527) de una proporcionalidad entre el aumento del azúcar sanguíneo en los perros nefrectomizados y el tiempo de supervivencia.

Es difícil evaluar la supervivencia de nuestros perros después de la nefrectomía. Al no ser este nuestro objeto, los animales eran sometidos a experiencias que generalmente o provocaban la muerte del animal, o lo dejaban en malas condiciones para que pudiera seguir viviendo. En la Tabla II y Gráfica II se expresan algunos valores que se han seguido en los animales nefrectomizados supervivientes, y en la Tabla X, en dos perros con los uréteres ligados. El aumento de la uremia, se hace mayor después de la nefrectomía, que de la ligadura de los uréteres. Las unidades xantoproteicas, son



solo ligeramente mas altas en los nefrectomizados, que en los perros con los uréteres ligados. Los lípidos de la sangre, experimentan un aumento después de la nefrectomía, como es conocido por los trabajos de JIMENEZ DIAZ y CASTRO MENDOZA (528); en estos y otros estudios todavía no publicados, se ocupan los autores del papel del riñón en el metabolismo de los lípidos, por lo que no vamos a tratar aquí de ello. Las proteínas sanguíneas, parecen, también, elevarse en el animal nefrectomizado en el experimento n° 27; que ello no es debido a un simple factor de hemoconcentración parece indicarlo la poca variación que se introduce en estos valores en el perro con los uréteres ligados. En cuanto al fósforo inorgánico, puede apreciarse como se eleva en los días siguientes a la nefrectomía, considerablemente mas que a continuación de la ligadura de los uréteres; esto apoyaría el punto de vista clásico de los que consideran al riñón como órgano que segrega fosfatos (529 a 531) o el de KAPLAN,

- 157 -

/que  
MEMELSDORF y DODGE (532) y otros, demuestran que los cortes de riñón son capaces de fijar fosfatos.

La producción continúa de azúcar por el riñón, queda claramente puesta de manifiesto, teniendo en cuenta la diferencia entre el azúcar que entra por la arteria y el que sale por la vena renales. (Tabla III). Las diferencias no pueden ser atribuidas a los límites de error del método empleado para la valoración de glicosa, el de HAGEDORD y JENSEN, ya que la distribución del error experimental del método, es en todo caso sensiblemente menor que las diferencias arterio-venosas. Estudiando la diabetes floridzínica, NASH encuentra confirmación a unos trabajos de LEVENE, del año 1895, según los cuales, la glicemia de la vena renal es menor que la de la arteria (533). Los estudios de BERGMAN y DRURY (1), RUSSELL (2) y REINECKE y colaboradores (3) y ROBERTS y SAMUEL (5) en animales eviscerados, permiten a los autores llegar a la conclusión de que la nefrectomía eleva las necesida-

des de azúcar de estos animales, lo que sería según ellos, prueba de ~~que~~ la formación de azúcar por el riñón.

Mucho mas demostrativo, para aclarar la formación de azúcar por el riñón, es el hecho primeramente puesto de manifiesto por nosotros, (554-) de que la cantidad de azúcar que sale del riñón es mayor que la que entra en dicho órgano. Posteriormente, la diferencia arteriovenosa a favor de la vena, ha sido confirmada por REINECKE y HAUSER (555) en perros eviscerados. El aumento de concentración de azúcar en la vena renal, no puede ser debido a las variaciones del volumen renal; el gran flujo de sangre que pasa por el riñón, hace que las variaciones en el volumen y el contenido de azúcar solo puedan tener lugar de manera transitoria. Pero este no es el caso, puesto que en nuestros animales, se repitió sistemáticamente la mayor concentración en la vena renal. Que el fenómeno no se debe tampoco a cualquier proceso relacionado con la excreción de orina, parece evidente, puesto que ésta, en

alguno de los perros de REINECKE, estaba impedida por la colocación de pinzas de presión en los uréteres. Por consiguiente, parece que se trata de un proceso de glucogénesis ó de neoglucogénesis. No sabemos aún, a expensas de que material se forma la glicosa o el glucógeno en el riñón, pero parece lo mas verosímil que sea por los aminoácidos o por los ácidos grasos degradados, interviniendo el riñón en el ciclo de los 3-C, donde en términos finales vienen a abocar todos los principios inmediatos.

Las posibilidades en la interpretación de la conducta del riñón durante la fase hiperglicémica, han sido ya considerados en la pág. 101, llegando a la conclusión de que el riñón normal actúa como estabilizador de la glicemia, reteniendo azúcar durante la fase hiperglicémica y soltándola una vez pasada ésta, como lo hace en la fase interdigestiva. En cambio, a la hipoglicemia insulínica, el riñón responde lanzando a la sangre mayores cantidades de glico-

sa que en el estado normoglicémico. Se trata sin duda de un verdadero mecanismo regulador de la glicemia. Esta afirmación se reafirma por las experiencias en las que se inyecta insulina a animales nefrectomizados. En la hipoglicemia, el riñón está vertiendo azúcar a la sangre, pero puesto que el animal sin riñones, se muestra incapaz de hacer frente a la hipoglicemia, es indudable que aquel órgano juega un papel de importancia vital, en el transcurso de la fase hipoglicémica a la normal.

En efecto, tanto las ratas como los perros nefrectomizados, son incapaces de resistir dosis de insulina, que dejan sin síntomas al animal normal. Esta falta de defensa de los nefrectomizados a la hiperglicemia, la hemos observado en todos nuestros animales. En dos de los perros, se logró evitar la muerte, por la administración, en plenas convulsiones, de glicosa. Otros cuatro perros, que de momento se habían salvado por la inyección de glicosa, vuelven espontáneamente a caer en hipoglicemia y mueren. Hemos querido descartar

la posibilidad de que en esta intolerancia, interviniese de alguna manera el anestésico general; por eso, en lugar de intervenir a los perros con eter o con un barbitárico, como hacíamos para el estudio de las diferencias arteriovenosas, aquí las operaciones se han efectuado con anestesia local. Las convulsiones y la muerte se deben específicamente a la falta de riñones, puesto que en perros con los uréteres ligados y uremias muy altas, no se apreciaban en las mismas condiciones -inyección intravenosa de la misma cantidad de insulina-, síntomas de intolerancia. En varios de los animales en los que aparecen convulsiones, la glicemia en ese momento difiere poco de la de los animales intactos en el mismo tiempo y que, sin embargo, les deja sin manifestaciones externas. Es decir, que los animales sin riñones, no alcanzan necesariamente por la administración de insulina, una glicemia mas baja que los intactos, pero para un nivel dado, son en cam-

bio mucho mas sensibles que estos.

Entre las variaciones que se introducen en la sangre del perro nefrectomizado por la inyección de insulina, pudieran tener interés las del fósforo, ya que los cambios importantes en el metabolismo hidrocarbonado, van asociados con cambios en el metabolismo del fósforo. El descenso de los fosfatos inorgánicos de la sangre del animal normal a continuación de la inyección de insulina, ha sido demostrado por primera vez por WIGGLESWORTH, WOODROW, WINTER y SMITH (536) y confirmado posteriormente (537 á 541, 78). Como puede apreciarse en nuestros animales intactos, el fósforo inorgánico desciende paralelamente a la glicemia, y después de la inyección de glicose alcanza sus valores normales. En los perros nefrectomizados el descenso del fósforo inorgánico en la sangre, es en todos, sensiblemente menor que en los intactos, sobre todo en los que llevan dos días nefrectomizados. El

hecho de que la diferencia entre la fosfotemia antes y después de la inyección de insulina, se reduce no solo en los perros nefrectomizados, sino también en los que tienen ligados los uréteres, parece indicar que la reducción no se debe a ningún mecanismo para el que sea necesario la presencia del riñón.

Hemos visto que todos los perros nefrectomizados, quedan indefensos ante la hipoglicemia insulínica. Que esto se debe a la falta de riñón parece claro si se tiene en cuenta que en tres perros, extractos renales glicerizados o acuosos, han logrado impedir la aparición de coma insulínico. La falta de protección de los extractos en otras experiencias, creemos que hay que buscarla en la técnica de preparación, todavía muy grosera para poder obtener en todos los casos los mismos efectos (542). El perro del experimento n° 37, nos proporciona algunos comentarios; es un animal en el que espontáneamente hemos comprobado una



uremia alta y que se comporta intacto ante la insulina, sin síntomas apreciables; es una prueba más de que es la presencia del riñón la que determina la protección contra la hipoglicemia insulínica; en el mismo animal, a las 24 horas de la nefrectomía, un extracto glicerinado de riñón, le protege contra el coma insulínico. En el perro del experimento n° 46, un extracto acuoso le confiere una defensa tal contra el coma, que aun con glicemias tan bajas como de 10 mgs. %, no aparecen manifestaciones convulsivas en las horas siguientes en que se le tiene en observación. Esto confirma nuestra creencia de que no es en sí misma la hipoglicemia lo que da lugar al cuadro convulsivo, sino que para ello es preciso la presencia de algo que existe en el riñón (enzima, hormona?), y que quizás es la sustancia activa puesto que centraliza en parte las consecuencias de la nefrectomía.

### CONCLUSIONES

- 1).- La exclusión de los riñones o la extirpación de los mismos, no introduce modificaciones sensibles en la glicemia, durante las cuarenta y ocho horas siguientes.
- 2).- En los perros nefrectomizados, la glicemia se eleva a partir del segundo día de supervivencia.
- 3).- La glicemia en la vena renal es, en la fase interdigestiva, mayor que en la arteria. El riñón está continuamente produciendo glicosa, que es lanzada a la circulación.
- 4).- Durante la hiperglicemia, por el contrario, la concentración de glicosa es mayor en la arteria que en la vena renales. En estas condiciones, el riñón retiene glicosa.

5).- En la hipoglicemia insulínica, la glicemia de la vena renal se hace aun mayor que en condiciones basales. En el perro hipoglicémico, el riñón lanza a la sangre, mayores cantidades de glicosa que en el normoglicémico. \*

6).- La inyección de insulina, provoca convulsiones y muerte en ratas y perros nefrectomizados, a las mismas dosis que en los animales intactos, no dan lugar a manifestación externa alguna. En algunos de los animales nefrectomizados, las convulsiones y la muerte se producen sin que la glicemia sea sensiblemente mas baja que en los intactos.

7).- La hipersensibilidad a la hipoglicemia insulínica, se debe específicamente a la falta de riñones, puesto que no se manifiesta en los perros que conservan sus riñones, pero que tienen los uréteres ligados.

8).- El descenso del fósforo inorgánico que se produce en la sangre de los perros por la administración de insulina, es reducido considerablemente en los nefrectomizados. Puesto que el mismo fenómeno se produce en los perros cuyos uréteres han sido ligados, suponemos que la anulación del efecto de la insulina sobre el descenso de la fosfatemia, no se debe a la presencia del riñón.

9).- Extractos glicerinados de riñón, han sido capaces de proteger a dos perros nefrectomizados, contra el coma insulínico. En tres perros en las mismas condiciones, no se obtiene protección. El extracto acuoso, ha impedido la aparición del cuadro convulsivo en un perro, pero no en otro. Las discrepancias son atribuidas a que los extractos son aun demasiado groseros, para obtener con ellos resultados constantes.

10).- El riñón es indispensable para la defensa del organismo,

- 168 -

contre la hipoglicemia.

---

BIBLIOGRAFIA

- 1.- BERGMAN, H. y DRURY, D.R.- Amer.J.Physiol. 124,279,1938.
- 2.- RUSSELL, J.A.- Amer.J.Physiol. 140,276,1942.
- 3.- REINECKE, R.M.- Amer.J.Physiol. 140,276,1943.
- 4.- SHIPLEY, R.A.- J.Physiol. III,662,1944.
- 5.- ROBERTS, S. y SAMUELS, L.T.- Amer.J.Physiol. 142,240,1944;  
146,558,1946.
- 6.- GRANDE, F., JIMENEZ DIAZ, C. y OYA, J.C.- Comunicación al XVII  
Congr.Internac.Fisiol.  
Oxford, 1947.
- 7.- JIMENEZ DIAZ, C., GRANDE, F. y OYA, J.C.- Nature, 158,589,1946.
- 8.- BERNARD, C.- Mem.Soc. de Biol., 1,121,1849.
- 9.- BERNARD, C.- Comp.Rend.Acad.Sciences, 31,371,1850.
- 10.- BERNARD, C.- Nouvelle fonction du Foie.- Paris, 1853.
- 11.- MANN, F.C.- Amer.J.Med. Sc., 161,37,1921.
- 12.- MARKOWITZ, J. y SOSKIN, S.- Proc.Soc.Exper.Biol.Med., 25,7,1927.
- 13.- MARKOWITZ, J., YATER, W.M. y BURROWS, W.H.- J.Lab.Clin.Med.,  
18,1271,1933.

- 14.- FIBOR, W.M. y STINSON, E..- Bull. Johns Hopkins Hosp., 44, 138, 1922.
- 15.- BOLLMAN, J.L., MANN, F.C. y MAGATH, T.B..- Amer. J. Physiol.,  
74, 238, 1925.
- 16.- SOSKIN, S..- Amer. J. Physiol., 81, 382, 1927.
- 17.- CAMPOS, C.A., CURUTCHET, J.L. y LANARI, A..- Comp. Rend. Soc. Biol.  
113, 467, 1933.
- 18.- HOUSSAY, B.A., BIASOTTI, A. y RIETTI, C.P..- Comp. Rend. Soc. Biol.  
115, 325, 1934.
- 19.- HOUSSAY, B.A. y FOGLIA, Y.G..- Comp. Rend. Soc. Biol., 123, 824, 1936.
- 20.- GEIGER, E. y SCHMIDT, E..- Arch. f. exper. Path. und Pharmacol.  
134, 173, 1928.
- 21.- GEIGER, E. y SCHMIDT, E..- Arch. f. exper. Path. und Pharmacol.  
143, 321, 1929.
- 22.- GEIGER, E..- Biochem. Zeitschr., 223, 190, 1930.
- 23.- CORI, C.F..- Physiol. Rev. II, 143, 1931.
- 24.- HIMWICH, H.E..- Yale J. Biol. Med., 4, 259, 1932.
- 25.- CORI, G.T., COLDWICK, S.P. y CORI, C.F..- J. Biol. Chem. 123, 375, 1938.
- 26.- CORI, G.T., COLOWICK, S.P. y CORI, C.F..- J. Biol. Chem. 123, 381, 1938.
- 27.- CORI, G.T., COLOWICK, S.P. y CORI, C.F..- J. Biol. Chem. 127, 771, 1939.

- 28.- GREEN, A.A., CORI, G.T. y CORI, C.F.-J.Biol.Chem.142,447,1942.
- 29.- CORI, G.T. y CORI, C.F.-J.Biol.Chem., 151,57,1943.
- 30.- MEYER, K.H.- Adv.Enzymol.,3,109,1943.
- 31.- CORI, G.T., COLOWICK, S.P. y CORI, C.F.- J.Biol.Chem.,124,543,1938.
- 32.- SUTHERLAND, E.W., COLOWICK, S.P. y CORI, C.F.- J.Biol.Chem.  
140,309,1941.
- 33.- MEYERHOF, O., OHLMAYER, P., GENTNER, W., y MEIER-LEIBNITZ, H.-  
Biochem. Zeitschr.,298,396,1938.
- 34.- CORI, C.F.- Endocrinology, 26,287,1940.
- 35.- LOHMANN, K.- Biochem. Zeitschr., 262,137,1933.
- 36.- DAVENPORT, H.A.- J.Biol.Chem., 70,625,1925.
- 37.- BLIXENKRONE-MÖLLER, N.- ZEITSCHR.f.Physiol.Chem.,252,117,1938.
- 38.- GODA, T.-Biochem.Zeitschr.,297,134,1938.
- 39.- AGGLETON, P. y EGGLETON, G.P.- J.Physiol.,65,15,1928.
- 40.- DAVENPORT, H.A. y SACKS, J.- J. Biol.Chem., 81,469,1929.
- 41.- LOHMANN, K.- Biochem. Zeitschr., 227,39,1930.
- 42.- CORI, G.T. y CORI, C.F.- J. Biol.Chem., 94,561,1931.



- 43.- CORI, C.F. y CORI, G.T..- J. Biol.Chem., 94, 531, 1931.
- 44.- CORI, G.T. y CORI, C.F..- J. Biol.Chem., 99, 493, 1933.
- 45.- CORI, G.T. y CORI, C.F..- J. Biol.Chem., 107, 5, 1934.
- 46.- FISHER, R.H. y CORI, G.T..- Amer.J. Physiol. 112, 5, 1935.
- 47.- CORI, G.T., GLOSS, J.O. y CORI, C.F..- J.Biol.Chem., 103, 13, 1933.
- 48.- JOHNSON, R.E. y EDWARDS, H.T..- J.Biol.Chem., 118, 427, 1937.
- 49.- CORI, C.F. y CORI, G.T..- Proc.Soc.Exper.Biol.Med., 34, 702, 1936.
- 50.- CORI, C.F., COLOWICK, S.P. y CORI, G.T..- J. Biol. Chem.  
121, 175, 1935.
- 51.- PARNAS, J.K. y BARANOWSKI, T..- Comp. Rend. Soc. Biol. 120, 175, 1935  
121, 282, 1936.
- 52.- OSTERN, P., GUTHKE, J.A. y TERZAKOWEC, J..- Comp.Rend.Soc.Biol.  
121, 282, 1936.
- 53.- OSTERN, P., GUTHKE, J.A. y TERZAKOWEC, J.- Zeitschr. Physiol.Chem.  
243, 9, 1936.
- 54.- KENDAL, L.P. y STICKLAND, L.H..- Biochem. J., 32, 572, 1938.
- 55.- SCHMIDT, G..- Zeitschr. J. Physiol., 179, 243, 1928.
- 56.- BAUER, K.H., VON EULER y LUNDBERG, K..- Zeitschr. Physiol.Chem.  
255, 89, 1938.

- 173 -

- 57.- CORI, C.F., CORI, G.T. y SCHMIDT, G.- Science, 89,464,1939.
- 58.- LOHMANN, K.- Ann.Rev. Biochem., 7, 125,1938.
- 59.- ENGELHARDT, V.A. y LJUBIMOVA, M.N.- Nature, 144,668,1939.
- 60.- WARBURG, O. y CHRISTIAN, W.- Biochem Zeitschr., 292,287,1937.
- 61.- LIPMANN, F.- Nature, 138,588,1936.
- 62.- DICKENS, F.- Biochem.J., 32,1626,1938.
- 63.- ENGELHARDT, W.A.- Biochemia, 3, 500,1938.
- 64.- CORRAN, H.S., GREEN, D.E. y STRAUB, F.B.- Biochem. J.,33,793,1939.
- 65.- CORI, C.F., CORI, G.T. y HEGNAUER, A.H.- J.Biol.Chem.,  
120,193,1937.
- 66.- CORI, G.T., CORI, C.F. y SCHMIDT, G.- J.Biol.Chem.,129,629,1939.
- 67.- MANN, F.C.- Medicine, 6,419,1927.
- 68.- ROSENTHAL, F.- Ergeb. d. inn. Med. u. Kinderh., 33,63,1928.
- 69.- YATER, W.M., MARKOWITZ, J. y CAHOON, R.F.- Arch. Int. Med.  
51,800,1933.
- 70.- SOSKINS, S. y LEVINE, R.- Amer. J. Physiol., 120,761,1937.

- 71.- SOSKIN, S., LEVINE, R. y TAUBENHAUS, M..- Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 44,257,1940.
- 72.- SOSKIN, S. y LEVINE, R..- Carbohydrate Metabolism., Chicago,1943.
- 73.- LUSK, G..- Elements, of the Science of Nutrition, Philadelphia,1928
- 74.- RAPPORT, D..- Physiol. Rev., 10,349,1930.
- 75.- MINKOWSKI, O..- Arch. f. exper. Path. und Pharmacol., 51,85,1893.
- 76.- EMBDEN, G. y SALOMON, H..- Beitr.z.Chem.Physiol.u.Pathol., 6,63,1904.
- 77.- MACLEOD, J.J.R. y MARKOWITZ, J..- Tr.A. Am. Physicians., 41,147,1926.
- 78.- CHAIKOFF, I.L., MACLEOD, J.J.R., MARKOWITZ, J. y SIMPSON, W.W..- Amer. J. Physiol., 74,36,1925.
- 79.- SOSKIN, S..- J. Nutrition, 3, 99, 1930.
- 80.- SOSKIN, S..- Endocrinology, 26, 297, 1940.
- 81.- SOSKIN, S..- Physiol. Rev., 21,140,1941.
- 82.- DANN, M., CHAMBERS, W.H. y LUSK, G..- J. Biol. Chem.,94,511,1921.
- 83.- NASH, T.P..- Physiol. Rev., 7, 385, 1937.
- 84.- EMBDEN, G. y SCHMITZ, E..- Biochem. Zeitschr., 38,393,1912.

- 85.- KREBS, H.A..- Biochem. J., 29,1620,1935.
- 86.- WEIL-MALHERBE, H..- Biochem. J., 30,665,1936.
- 87.- EMBDEN, G., SOLOMON, H. y SCHMIDT, F..- Beitr. z. Chem. Physiol.  
u. Pathol., 8,129,1906.
- 88.- EDSON, N.L..- Biochem. J., 29,2498,1935.
- 89.- BUTTS, J.S., DUNN, M.S. y HALLMAN, L.F..- J. Biol. Chem.,  
112,263,1935.
- 90.- CHARGAFF, E. y SPRINSON, D.B..- J. Biol. Chem., 151,273,1943.
- 91.- DAKIN, H.D..- J. Biol. Chem., 14,321,1913.
- 92.- SMYTHE, C.V..- J. Biol. Chem., 142,387,1942.
- 93.- KAMPFHAMMER, J. y ELSCHOFF, C..- Zeitschr. Physiol. Chem.,  
172,251,1927.
- 94.- BUTTS, J.S. y SINNHUBER, R.D..- J. Biol. Chem., 139,963,1941.
- 95.- ROSE, W.C., JOHNSON, J.E. y HAINES, W.J..- J. Biol. Chem.,  
145,679,1942.
- 96.- RINGER, A.I. y LUSK, G..- Zeitschr. Physiol. Chem.,66,106,1910.
- 97.- MACKAY, E.M., WICK, A.N. y CARNE, H.A..- J. Biol. Chem.,  
132,613,1940.

- 98.- PFLUEGER, E. y JUNKERSDORF, P.- Arch.f.d.Gesam. Physiol.,  
131,201,1910.
- 99.- WILSON, R.H. y LEWIS, H.B.- J. Biol. Chem., 85,559,1930.
- 100.- BACH, S.J. y HOLMES, E.- Biochem. J., 31,89,1937.
- 101.- BACH, S.J.- Biochem. J., 33,90,1939
- 102.- OLSEN, N.S., HEMINGWAY, A. y NIER, A.O.- J. Biol. Chem.,  
148,611,1943.
- 103.- SOSKIN, S., PRIEST, W.S. y SCHUTZ, W.J.- Amer. J. Physiol.  
108,107,1934
- 104.- SOSKIN, S., ESSAY, H.E., HENRICK, J.F. y MANN, F.C.- Amer. J.  
Physiol. 118,328,1937.
- 105.- HILMSWORTH, H.P. y SCOTT, D.B. McN.- J. Physiol., 93,159,1938.
- 106.- YOUNG, F.G.- J. Physiol., 87, II P., 1936.
- 107.- YOUNG, F.G.- Lancet, 231,237,297,1936.
- 108.- SOSKIN, S.- Biochem. J., 23,1369,1929.
- 109.- CHAIKOFF, I.L. y WEBER, J.J.- J. Biol. Chem., 76,813,1928.
- 110.- STOHR, R.- Zeitschr. Physiol. Chem., 217,141,1933.
- 111.- STOHR, R.- Zeitschr. Physiol. Chem., 220,27,1933.

- 112.- MIRSKY, I.A., y SOSKIN, S.- Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,  
32,1273,1935.
- 113.- HOCHFELD, H. A.- Biochem. Zeitschr., 282,392,1935.
- 114.- BOLLMANN, J.L., MANN, F.C. y WILHELM, J.- J. Biol. Chem.,  
93,81,1931.
- 115.- KAPILLER-ADLER, R. y RUBINSTEIN, M.- Biochem. Zeitschr.  
248,196,1932.
- 116.- LOEBEL, R.O.- Biochem. Zeitschr., 161,259,1925.
- 117.- DICKENS, F. y SIMER, F.- Biochem. J., 25,985,1931.
- 118.- ASHFORD, G.A. y HOLMES, E.G.- Biochem. J., 25,2028,1931.
- 119.- HIMWICH, H.E. y NAHUM, L.H.- Amer. J. Physiol., 101,446,1932.
- 120.- BAKER, Z., FAZEKAS, J.F. y HIMWICH, H.E.- J. Biol. Chem.  
125,545,1938.
- 121.- IEMEREY, M.S.- J. Physiol. 27,66,1901.
- 122.- MAGNUS-LEVY, A.- Zeitschr. Klin. Med., 56,83,1905.
- 123.- LUSK, G.- Arch. Int. Med., 15,939,1915.
- 124.- GEELMUYDEN, H.C.- Ergeb. d. Physiol., 21,274, 1923.
- 125.- GEELMUYDEN, H.C.- Ergeb. d. Physiol. 29,51,1923.

- 126.- WERTHESSSEN, N.- Amer. J. Physiol., 120,458,1937.
- 127.- RICHARDSON, H.B.- Physiol. Rev., 9, 61, 1929.
- 128.- EATON, A.G. y MURLIN, J.R.- Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,  
31,378,1933.
- 129.- HAWLEY, E.E., JOHNSON, C.W. y MURLIN, J.R.- J. Nutrition,  
6,523,1933.
- 130.- JIMENEZ DIAZ, PERERA, (Datos no publicados).
- 131.- RICHARDSON, H.B. y MASON, E.H.- J. Biol. Chem., 57,587,1923.
- 132.- HEDON, L.- Arch. Internat. Physiol., 27,254,1926.
- 133.- EMBDEN, G. y ENGEL, H.- Beitz. z. Chem. Physiol. u. Pathol.,  
II,323,1908.
- 134.- EMBDEN, G. y LATTES, L.- Beitz. z. Chem. Physiol. Pathol.  
II,327,1908.
- 135.- RAPER, H.S. y SMITH, E.C.- J. Physiol., 62,17,1926.
- 136.- CHAIKOFF, I.L. y SOSKIN, S.- Amer. J. Physiol., 87,58,1928.
- 137.- LEITES, S. y ODINOW, A.I.- Biochem. Zeitschr., 282,345,1935.
- 138.- MIRSKY, I.A.- Amer. J. Physiol., 115,424,1936.

- 139.- MIRSKY, I. A..- Amer. J. Physiol., 116,322,1936.
- 140.-MIRSKY, I.A. y BROH-KAHN, R.H..- Amer. J. Physiol., 119,734,1937.
- 141.- MIRSKY, I.A. y BROH-KAHN, R.H..- Amer.J.Physiol.,120,446,1937.
- 142.- WATERS, E.T., FLETCHER, J.P. y MIRSKY, I.A..- Amer. J. Physiol.  
122,542,1938.
- 143.- DYE, J.A. y CHIDSEY, J.L..- Amer. J. Physiol., 127,745,1939.
- 144.- SHIPLEY, R.A. y HUMMEL, E.J..- Amer. J. Physiol.,144,51,1945.
- 146.- ROSENFELD, G..- Klin. Wchschr., 43, 978, 1906.
- 147.- WOODYATT, R.T..- J. A. M.A., 55, 2109, 1910.
- 148.- WOODYATT, R.T..- J.A.M.A., 66, 1910 y 1916.
- 149.- SHAFFER, P.A..- J. Biol. Chem., 47, 433 y 449, 1921.
- 150.- SHAFFER, P.A..- J. Biol. Chem., 49, 143, 1921.
- 151.- SHAFFER, P.A..- J. Biol. Chem., 54, 399, 1922.
- 152.- HAARMANN, W..- Biochem. Zeitschr., 282, 406, 1935.
- 153.- HAARMANN, W. y SCHRIFEDER, E..- Biochem. Zeitschr.,296,35,1938.
- 154.- JOWETT, M. y Quastel, J.H..- Biochem, J. , 29,2143,2159 y  
2181, 1935.



- 155.- GEMMILL, C.L. y HOLMES, E.G.- Biochem. J., 29,338,1935.
- 156.- WEIL-MALHERBE, H.- Biochem. J., 32, 2276,1938.
- 157.- BURN, J.H. y MARKS, H.P.- J. Physiol., 61, 497, 1926.
- 158.- ELIXENKRONE-MÖLLER, N.- Zeitschr. Physiol. Chem.,258,137,1938.
- 159.- HELLER, H.- Acta Médica Scandínávica, 90,365, 1936.
- 160.- HELLER, H.- Acta Médica Scandínávica, 90,489,1936.
- 161.- BUCHANAN, J.M., HASTINGS, A.B. y NESBETT, F.B.- J. Biol. Chem.  
150,413,1943.
- 162.- WEINHOUSE, S., MEDES, G. y FLOID, N.- Amer. J. Med. Sc.,  
207,812,1944.
- 163.- WEINHOUSE, S., MEDES, G. y FLOID, N.- J. Biol. Chem. 158,411,  
1945.
- 164.- BURN, J.H. y DALE, H.H.- J. Physiol., 59, 164, 1924.
- 165.- BEST, C.H., HOET, J.P. y MARKS, H.P.- Proc. Roy. Soc. London,  
B.100,32,1926.
- 166.- BEST, C.H., DALE, H.H., HOET, J.P. y MARKS, H.P.- Proc. Roy. Soc.  
London, B. 100, 55, 1926.
- 167.- De GRANDE COVIAN, F.- Rev. Clin. Esp., 7, 170, 1943.

- 168.- BISSINGER, E., y LESSER, E.J.- Biochem. Zeitschr., 168,398,  
1926.
- 169.- ELLIOTT, K.A.C., SCOTT, H. y LIBET, B., J. Biol Chem.  
146,251,1942.
- 170.- WIERZUCHOWSKI, M.- Biochem. Zeitschr. 230,189,1931.
- 171.- STAUB, H.- Ergeb. d. inn. Med. u. Kinderh. 31,121,1927.
- 172.- SOSKIN, S., ALLWEISS, M.D. y COHN, D.J.- Amer. J. Physiol.,  
109,155,1934.
- 173.- SOSKIN, S., LEVINE, R. y TAUBENHAUS, M.- Proc. Soc. Exp. Biol.  
Med., 42,683,1939.
- 174.- TAUBENHAUS, M., LEVINE, R. y SOSKIN, S.- Proc. Soc. Exp. Biol.  
Med., 42,693,1939.
- 175.- SOSKIN, S., ESSEX, H.E., HERRICK, J.F. y MANN, F.C.- Amer. J.  
Physiol., 124,558,1938.
- 176.- HOUSSAY, B.A.- New England J. med., 214,971,1936.
- 177.- STAUB, H.- Klin Wochschr.
- 178.- GREENWALD, I., GROSS, J. y SAMET, J.- J. Biol. Chem. 62,401,1924
- 179.- JORDAN, E.M.- Amer. J. Physiol., 80,441,1927.
- 180.- KOHN, J.L., FRIES, M.C. y FELSHIN, C.- Amer J. dis Child.,  
34,857,1927.

- 181.- NIELSEN, J.M. y LEWIS, W.E.- Arch. Pat. and Lab. Med.  
3,212,1927.
- 182.- SWEENEY, J.S.- Arch. Inst. Med., 40, 818~~4~~, 1927.
- 183.- MALMROS, H.- Acta Médica Escandinávica suppl., 27, 1928.
- 184.- DEUEL, H.J. y GULICK, M.- J. Biol. Chem., 89,93,1930.
- 185.- DANN, M. y CHAMBERS, W.H.- J. Biol. Chem., 89, 675, 1930.
- 186.- HOLT, G.W. y GREISHEIMER, E.M.- Proc. Soc. Exper. Biol. Med.  
28,547,1931.
- 187.- SHAW DUNN, J., SKELHAN, H.L. y MAC LETCHIE, N.G.B.- Lancet, 1,484,  
1943.
- 188.- SHAW DUNN, J. y MAC LETCHIE, N.G.B.- Lancet, 2, 384, 1943.
- 189.- GRANDE COVIAN, F. y OYA, J.C.-Rev. Clin. Esp., 15,262,1944;  
17,9 y 320, 1945; 19,243,1946;  
24,1,1947.
- 190.- RODRIGUEZ CANDELA, J.L.- Comunicación a la Academia Médico  
Quirúrgica Española 29,283,1945.
- 191.- JIMENEZ DIAZ, C., OYA, J.C. y GRANDE COVIAN, F.- Rev. Clin. Esp.  
21,328,1946.
- 192.- MACLEOD, J.J.R.- Carbohydrate metabolism and insulin.-London,1926.

- 193.- MIRSKI, I.A..- ENDOCRINOLOGY, 25,52,1939.
- 194.- GABELER, O.H. y ROBINSON, A.R..- Endocrinology, 30,627,1942.
- 195.- MACKAY, E.M., BARNES, R.N. y BERGMAN, H.C..- Amer. J. Physiol.,  
126,155,1939.
- 196.- JANNEY, H.W. y SHAPIRO, I..- Arch. Int. Med., 38, 96, 1926.
- 197.- STADIE, W.C., LUKENS, F.D.W. y ZAPP, J.A..- J. Biol. Chem.  
132,393,1940.
- 198.- CAMPBELL, J..- Amer. J. Physiol., 147,762,1946.
- 199.- CORI, G.T., CORI, G.F. y BUCHWALD, K.W..- J. Biol Chem.,  
86,375,1939.
- 200.- MOLLITOR, H. y POLLACK, L..- Arch. Exper. Pathol. und Pharmacol  
154, 280, 1930.
- 201.- ISSKUTZ, B. y SZENDE, J., Biochem, Zeitschr. 272,412,1934.
- 202.- LOVATT EVANS, G..- Recent Advances in Physiology.- Sexta edición  
Londres, 1939.
- 203.- STAUB, H..- Zeitschr. Klin. Med., 104,567,1926.
- 204.- STAUB, H..- Klin wehschr., 6,401,1927.
- 205.- GRAFE, E. y MEYTHALER, F..- Arch. exper. Pathol., 136,360,1928.

- 206.- GRAFE, E..- Med. Klin, 28,468,1932.
- 207.- GAYET, R..- Le fonctionnement endocrinien du pancréas et sa  
regulation sans le concours du système nerveux,  
Paris, 1933.
- 208.- HOUSSAY, B.A., LEWIS, J.T. y FOGLIA, J.G..- C.R. Soc. Biol.  
100,140, y 142,1929.
- 209.- LA BARRE, J..- Diabète et insulinoémie.- Paris,1933.
- 210.- FALIN, L..- Arch. Exper. Pathol., 173,12,1933.
- 211.- LUNZ, E. y LA BARRE, J..- Comp. Rend. Soc. Biol.,96,1045,1927.
- 212.- LUNZ, E. y LA BARRE, J..- Comp. Rend. Soc. Biol., 99,335,1928.
- 213.- LUNZ, E. y LA BARRE, J..- Comp. Rend. Soc. Biol., 101,141 y 142,  
1929.
- 214.- KJERULFF-JENSEN, K. y LUNDGAARD, E..- Acta Physiol. Scand.  
7,209,1944.
- 215.- WEISSBERGER, L.H..- J. Biol Chem., 160,481,1945.
- 216.- De DUVE, C. y HERS, H.G..- Comp. Rend. Soc. Biol.,139,182,1945
- 217.- HEDGM, E..- Travaux de Laboratoire, 1938.
- 218.- LOMBROSO, U..- Ergeb. d. Physiol., 9,1,1910.

- 219.- BANTING, F.G. y GAIRNS, S.- Amer. J. Physiol., 68, 24, 1924.
- 220.- GORRAL, J.M.- Zeitschr. f. Biol., 68, 395, 1918.
- 221.- BRITTON, S.W.- Amer. J. Physiol., 74, 290, 1925.
- 222.- CLARK, A.G.- J. Physiol., 59, 467, 1925; 61, 576, 1926; 73, 297, 1928.
- 223.- ROUSSAY, B.A., LEWIS, J.T. y FOGLIA, V.G.- Comp. Rend. Soc. Biol.  
160, 144, 1929.
- 224.- PUCHE ALVAREZ, J.- REV. Med., Barcelona, 12, 525, 1929.
- 225.- PUCHE ALVAREZ, J.- Amer. J. Physiol., 90, 280, 1929.
- 226.- KTCHEVERNY, A.O.- Comp. Rend. Soc. Biol., 126, 147 y 149, 1937.
- 227.- VON NOORDEN, C. e ISAAC, S.- Die Zuckerkrankheit, octava edición, Berlin, 1928.
- 228.- MACLEOD, J.J.R.- The fuel of life.- Princeton, 1928.
- 229.- GRANDALL, L.A. y LIPSCOMB, A.- Amer. J. Physiol. 148, 312, 1947.
- 230.- PRICE, W.H., CORI, C.F. y COLOWICK, S.P.- J. Biol. Chem.,  
160, 633, 1945.
- 231.- PRICE, W.H., ELLIN, M.W., COLOWICK, S.P. y CORI, G.T.- Federation Proc., 5, 150, 1946.
- 232.- GAMMELTOFT, A., KRUMHOFER, P. y LUNDSGAARD, E.- Acta Physiol. Scandinav. 8, 162, 1944.

- 234.- CORI, C.F. y CORI, G.T.- Ann.Rev. Biochem., 15,193,1946.
- 235.- STETTIN, D. y KLIN, B.V.- J. Biol. Chem., 159,593,1945.
- 236.- STETTIN, D. y KLIN, B.V.- J. Biol. Chem., 162,377,1946.
- 237.- STETTIN, D.- J.A.M.S. 132,373,1946.
- 238.- STETTIN, D.- Ann. Rev. Biochem., 16,125,1947.
- 239.- STETTIN, D.- Proc. Amer. Diabetes Assoc., 8, 69,1946.
- 240.- MIRSKY, I.A.- Amer. J. Digestive Diseases, 13,130,1946.
- 241.- BENNETT, L.L. y ROBERTS, L.M.- Amer. J. Physiol.146,502,1946.
- 242.- MURLIN, J.R., GLOUGH, H.P., GIBBS, C.B.F. y STOKES, H.M.-  
J. Biol. Chem., 56,252,1923.
- 243.- FISHER, N.F.- Amer. J. Physiol., 67,57,1923.
- 244.- MARTINO, G.- Arch. di Sc. Biol. (Italia), 10,408,1927.
- 245.- FUNK, C.- Deutsch. med. Wochenschr., 53,21,1927.
- 246.- BURGER, M. y KRAMER, H.- Zeitschr. ges. exp. Med., 69,57,1929.
- 247.- BURGER, M. y BRANDT, W.- Zeitschr. ges. exp. Med.,96,373,1935.
- 248.- BURGER, M.- Klin. Wochschr., 16,361,1937.
- 249.- BURGER, M. y KRAMER, H.- Zeitschr. ges. exp. Med., 100,1,1938.

- 249.- KIMMERMANN, B. y DONOVAN, T.J.- Amer.J. Physiol.153,197,1948.
- 250.- HEARD, R.D.H., LOZINSKI, E., STEWART, L. y STEWART, R.D.  
J. Biol. Chem. 172,857, 1948.
- 251.- De DUVE, C. y HERS, H.G.- Comp. Rend. Soc. Biol.,141,1147,1947.
- 252.- JIMENEZ DIAZ, C.- Anales del Instituto de Investigaciones Médicas, I, 397,1941.
- 253.- JONES, A.- Klin. Wochschr., 24/25,97,1946.
- 254.- BORCHARDT, L.- Zeitschr. Klin. Med., 66,332,1908.
- 255.- CUSHING, H., GOETTSCH, E. y JACOBSON, O.- Bull. Johns Hopkins Hosp.,22,165,1911.
- 256.- DAVIDOFF, L.M. y CUSHING, H.- Arch. Int.Med.,39,751,1927.
- 257.- JONES.- Citado por CAMERON, A.T.- Recent advances in Endocrinology, sexta edición, pág. 325.- Londres, 1947.
- 258.- YOUNG, F.G.- Endocrinology, 26,345,1940.
- 259.- HOUSSAY, B.A. y MAGENTA, M.A.- Rev. Argent. de Biol.5,389,1924.
- 260.- HOUSSAY, B.A. y POTICK, D.- Comp. Rend. Soc. Biol.,101,940,1929.
- 261.- HOUSSAY, B.A. y MIASOTTI, A.- Comp. Rend. Soc. Biol. 104.407,1930.



- 262.- HOUSSAY, B.A. y BIASOTTI, A.- Comp. Rend. Soc. Biol.  
105,121,1930.
- 263.- HOUSSAY, B.A. y BIASOTTI, A.- Comp. Rend. Soc. Biol.  
105,124,1930.
- 264.- MANSEROTTO, E.M.- Comp. Rend. Soc. Biol., 112,499,1933.
- 265.- HOUSSAY, B.A., BIASOTTI, A. y RIETTI, C.T.- Rev. Soc.Argent.Biol.  
8,459,1932.
- 266.- EVANS, H.M., MEYER, K., SIMPSON, H.E. y REICHERT, F.L.- Proc.  
Soc.Exper.Biol.Med.,29,857,1932.
- 267.- BAUMANN, E.J. y MARINE, E.- Proc. Soc. Exper. Biol. Med.  
29,1220,1932.
- 268.- RUSSELL, J.A.- Amer. J. Physiol., 124,774,1938.
- 269.- YOUNG, F.G.- J. Physiol., 90,20 P, 1937.
- 270.- KEPINOV, L.- Comp. Rend. Soc. Biol., 126,1084,1937.
- 271.- HEMSWORTH, H.P. y SCOTT, D.P.M.- J. Physiol., 92,183,1938.
- 272.- MARKS, H.P. y YOUNG, F.G.- J. Physiol., 93,61,1938.
- 273.- COLLIP, J.B.- Edinburgh. Med. J., 45,782,1938.
- 274.- LEVINE, R., HECHTER, O., GROSSMAN, A. y SOSKIN, S.- Proc. Soc.  
Exper.Biol Med.,40,525,1939.

- 275.- JENSEN, H. y GRATTAN, J.F.- Amer. J. Physiol., 128,270,1940.
- 276.- BODO, R.C., ELOCH, H.I. y GROSS, I.H.- Amer. J. Physiol.  
137,124,1942.
- 277.- BODO, R.C., ELOCH, H.I. y SLATER, I.- Amer. J. Physiol.  
137,671,1942.
- 278.- KELLER, A.D., LAWRENCE, W.E. y BLAIR, C.B.- Arch. Path.  
40,289,1945.
- 279.- YOUNG, F.G.- Biochem. J., 32,513,524,1521,1938.
- 280.- YOUNG, F.G.- Chem. Ind. 57,1190,1938.
- 281.- RUSSELL, J.A. y BENNETT, L.L.- Proc. Soc. Exper.Biol. Med.  
34,406,1936.
- 282.- LOURATIERES, A.- Cit. por LUKENS, F.D.W. Ann.Rev.Physiol.  
IX,69,1947.
- 283.- BENNETT, L.L. y PERKINS, R.Z.- Endocrinology 36,24,1945.
- 284.- HOUSSEY, B.A., BLASOTTI, A. y DAMBROSI, R.G.- Rev. Soc. Argent.  
Biol. 12,185,1936.
- 285.- YOUNG, F.G.- Proc. Roy. Soc. Med. 31,1305,1938.
- 286.- CAMPBELL, J. y BEST, C.H.- Lancet 1, 1444,1938.
- 287.- DOHAN, F.C.- Proc. Soc. Exper.Biol.Med., 39,24,1938.

- 288.- HOUSSEY, B.A. y BLASSETTI, A.- Kongressber.i.i.des XIV Inter.  
Physiol. Kong. pag.317,1938.
- 289.- DOHAN, F.C. y LUKENS, F.D.W.- Amer. J. Physiol., 125,188,1939.
- 290.- OGILVIE, R.F.- J. Path. Bact., 61,225,1944.
- 291.- HOUSSEY, B.A.- Rev. Asoc. Med. Argentina, 58,1,1944.
- 292.- YOUNG, F.G.- Biochem. J., 39,515,1945.
- 293.- YOUNG, F.G.- Practitioner, 154, 129, 1945.
- 294.- LUKENS, F.D.W. y DOHAN, F.C.- Archiv. Path., 41,19,1946.
- 295.- GRAY, C.H. y OAKLEY, W.G.- Lancet, 1,343,1946.
- 296.- LONG, C.N.H.- Medicine, 16,225,1937.
- 297.- LUKENS, F.D.W.- Amer. J. Med. Sc., 212,229,1946.
- 298.- ABELIN, I.- Helv. Physiol. et Pharmacol. Acta, I, 81,1934.
- 299.- ELMAJIAN, F., FREEMAN, H. y PINCUS, G.- Endocrinology,  
39,293,1946.
- 300.- DOHAN, F.C. y LUKENS, F.D.W.- Science, 105,183,1947.
- 301.- ANDERSON, E.- Ann. Rev. Physiol, X, 529, 1948.
- 302.- ANSELMINO, K.J., HEROLD, L. y HOFFMANN, F.- Klin. Wochschr.  
12,1245,1935.

- 303.- RICHARDSON, K.G. y YOUNG, F.G...- J. Physiol., 91,352,1937.
- 304.- MARKS, H.P. y YOUNG, F.G...- Chem. Ind., 58,652,1939.
- 305.- RICHARDSON, K.G. y YOUNG, F.G...- Lancet 1: 1098,1939.
- 306.- COHEN, J.W. y LOUIS, L...- J. Clin. Endocrinol., 5,247,1945.
- 307.- HAIST, R.E...- Physiol. Rev. 24,409,1944.
- 308.- BUEN, J.H. y LING, H.W...- J. Physiol. 69,19P, 1930.
- 309.- GRAY, C.H...- J. Endocrinol. 3,132,1942.
- 310.- SHIPLEY, R.A. y LONG, C.M.H...- Biochem. J., 32,2242,1938.
- 311.- MARKS, H.P. y YOUNG, F.G...- J. Endocrinol. 1,470,1939.
- 312.- WINKSTEIN, R.C...- Proc. Soc. Exper. Biol. Med.
- 313.- GAEHLER, O.H. y ZIMMERMAN, W.J...- Amer. J. Physiol. 128,111,1939.
- 314.- HAIST, R.E...- J. Physiol., 98,219,1940.
- 315.- HARRISON, H.C. y LONG, C.M.H...- Endocrinology 26,971,1940.
- 316.- HAN, A.W. y HAIST, R.E...- Am. J. Path., 17,787,1941.
- 317.- LUKENS, F.D.W. y DOHAN, F.C...- Endocrinology, 30,175,1942.

- 318.- ROUSSAY, B.A.- History of hypofyseal diabetes.- Essays in Biology.- Berkeley, 1943.
- 319.- SOSKIN, S., MIRSKY, I.A., ZIMMERMAN, L.M. y CROHNIN.- Amer. J. Physiol. 144,110,1955.
- 320.- ROUSSAY, B.A. y BLASOTTI, A.- Endocrinology, 15,511,1951.
- 321.- RING, G.C.- Amer. J. Physiol., 109,88,1934.
- 322.- RUSSEL, J.A.- The relationship of the anterior pituitary to the thyroid and the adrenal cortex in the control of carbohydrate metabolism.- Essays in Biology.- Berkeley, 1944.
- 323.- LONG, C.M.H. y LUKENS, F.D.W.- J. Exp. Med., 63,465,1936.
- 324.- INGLE, D.J. y PRESTUD, M.D.- Amer. J. Physiol. 152,603,1948.
- 325.- MIRSKY, A. y SWADESH, S.- Amer. J. Physiol., 123,148,1938.
- 326.- YOUNG, F.G.- Ann. Rev. Physiol. VI, 427,1944.
- 327.- FRAENKEL-CONRAT, H.J., FRAENKEL-CONRAT, H.L. y EVANS, H.M. Amer. J. Physiol., 137,200,1942.
- 328.- FRAENKEL-CONRAT, H.J.- Ann. Rev. Biochem., XII,273,1943.
- 329.- MARK, W., SIMPSON, M.E., LI, C.H. y EVANS, H.M.- Endocrinology, 33,102,1943.

- 330.- SAYERS, G., WHITE, A. y LONG, C.M.H.- J. Biol. Chem., 149,  
425, 1943.
- 331.- FRANKEL-CONRAT, H.L. y FRANKEL-CONRAT, H.J.- Federat. Proc.  
3, 57, 1944.
- 332.- BANTING, F.G. y GAINES, S.- Amer. J. Physiol. 77, 190, 1926.
- 333.- ROGOFF, J.M. y STEWART, G.M.- Amer. J. Physiol., 78, 683, y  
711, 1926; 84, 649 y 660, 1928; 88,  
162, 1929.
- 334.- STEWART, G.M. y ROGOFF, J.M.- Amer. J. Physiol., 91, 254, 1930.
- 335.- LOEB, R.- Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 30, 808, 1933.
- 336.- LOEB, ATCHLEY, D.W. y STAHL, J.- J.A.M.A., 104, 2149, 1935.
- 337.- HARROP, G.A.- Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 2, 375, 1937.
- 338.- KENDALL, E.C.- Proc. Staff Meet., Mayo Clin., 13, 379 y 519,  
1938.
- 339.- KENDALL, E.C.- J.A.M.A., 116, 2594, 1941.
- 340.- KENDALL, E.C.- Endocrinology, 30, 853, 1942.
- 341.- CAMERON, A.T. y GARRIGHAN, J.- Nature, 157, 483, 1946.
- 342.- JIMENEZ DIAZ, G. y MANSERA, J.- Ann. Clin. Jiménez Díaz 1, 177  
1938.

- 343.- JIMENEZ DIAZ, C., MANSERA, J. y ROLDAN, An. Clin. Jimenez Diaz 3,475,1930.
- 344.- JIMENEZ DIAZ, C.- An. Inst. Investig. med. y Clin. Med. Jimenez Diaz, 1, 21 y 35, 1942.
- 345.- BRITTON, S.W. y SILVETTE, H.- Amer. J. Physiol., 99,15,1931; 100,693, y 701, 1932; 107, 190, 1934; 113, 594, 1937.
- 346.- SILVETTE, H. y BRITTON, S.W.- Amer. J. Physiol. 100,685,1932; 108,535,1934; 115,618,1935.
- 347.- BORNSTEIN, A. y HOLM, K.- Biochem. Z.132,138,1922.
- 348.- BORNSTEIN, A. y HORNBIACH, C.- Zeitsch. Exper. Med.,37,24,1923.
- 349.- MARAÑON, G.- Press. méd. pag. 101,1925.
- 350.- MARAÑON, G.- Libro homenaje a Mareñón, pag.1131,1929.
- 351.- MARAÑON, G. y MENITEZ, J.- Endokrinol., 13,53,1933.
- 352.- MARAÑON, G., SALA, B. y ARGUELLES, G.- An. Med.Int. 3,1019, 1934.
- 353.- HANDOVSKY, H. y TAMMANN, H.- Arch. Exper. Path., 134,203,1928.
- 354.- BRITTON, S.W.- Physiol. Rev. 10,617,1930.
- 355.- BRITTON, S.W., SILVETTE, H. y KLINER.- Amer. J. Physiol.122,446, 1938; 123,705,1938.

- 356.- BLOOMFIELD, A.L.- Bull. Johns Hopkins Hosp. 65,456,1939.
- 357.- SWINGLE, W.W. y REMINGTON, J.W.- Physiol. Rev., 24,1,1944.
- 358.- BERRY, H. y HALLOISEL, J.- Comp. Rend. Soc. Biol., 65,232,1938.
- 359.- FORGAS, O.- Zeitschr. Klin. Med., 69,341,1909; 72,14,1910.
- 360.- SCHWARZ, O.- Arch.f.d.Gesam. Physiol., 134,259,1910.
- 361.- KAHN, R.H.- Arch.f.d.Gesam.Physiol., 140,209,1911.
- 362.- KURIYAMA, S.- J. Biol. Chem., 34,287,1918.
- 363.- REGNIER, M.T. y SIMONETT, M.H.- Bull. Soc. Chim. Biol., 14,614, 1922,1923.
- 364.- MARANON, G., GARRASCO, y BLANCO SOLER, Citados por Jiménez Díaz C.(344 y 345).
- 365.- BOGGILD, D.H.- Acta Path. Microbiol. Scandinav., 2,68,1925.
- 366.- HARTMAN, F.A., MACARTHUR, C.O., GUNN, F.D., HARTMAN, W.E. y MAC DONALD,- Amer. J. Physiol., 81,244,1927.
- 367.- HARTMAN, F.A., BROWNELL, K.A. y LOCKWOOD, J.E.- Endocrinology, 16,521,1932.
- 368.- HARTMAN, F.A., LEWIS, L.A., GABRIEL, J.A., SPOOR, H.J. y BROWNELL, K.A.- Endocrinology, 27,287,1940.
- 369.- ZWIMMER, R.L.- Amer. J. Physiol., 79,658,1927.



- 370.- ZWEMMER, R.L. y SULLIVAN, R.C.- endocrinology, 18,97,1934.
- 371.- CORI, G.F. y CORI, G.T.- J. Biol. Chem. 74,473,1927.
- 372.- ARTONDO, A.- Comp. Rend. Soc. Biol., 97,411,1927.
- 373.- SWINGLE, W.W.- Amer. J. Physiol., 79,666,1927.
- 374.- MARAÑON, G.- Endokrinol. 5,185,1929.
- 375.- MARAÑON, G. y COLLAZO, J.A.- Wien. Arch. Inn. Med., 27,189,1933.
- 376.- WYMAN, L.C. y WALKER, B.S.- Amer. J. Physiol., 89,213,1929.
- 377.- OCHOA, S. y GRANDE, F.- Pflügers Arch. 231,220,1933.
- 378.- OCHOA, S.- Pflügers Arch., 231,222,1933.
- 379.- NORRIS, J.C.- Amer. J. Clin. Path., 5,120,1935.
- 380.- THADDEA, S.- Zeitschr. Exper. Med., 95,600,1935.
- 381.- EVANS, G.T.- Amer. J. Physiol. 114,297,1936.
- 382.- PARKINS, W.H., EAYS, H.W. y SWINGLE, W.W.- Amer. J. Physiol.  
117,13,1936.
- 383.- DEUEL, H.J., HALLMANN, L.F., MURRAY, S. y SAMUELS, L.T.-  
J. Biol Chem., 119,607,1937.
- 384.- LUKENS, F.D.W., FLIPPIE, H.F. y THIGPEN, F.M.- Amer. J. Med. Sc.  
193,812,1937.

- 385.- HARRISON, H.C. y LONG, C.M.H.- Amer. J. Physiol. 126,526,1939.
- 386.- BRITTON, S.W.- Amer. J. Physiol. 126,443,1939.
- 387.- MASON, H.L.- Endocrinology, 25,405,1939.
- 388.- HARRISON, H.C. y HARRISON, H.C.- Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 42,596,1939.
- 389.- GRATTAN, J.F. y JENSEN, J.- J. Biol. Chem., 135,511,1940.
- 390.- INGLE, D.J.- Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 44,176,450,1940;  
Amer. J. Physiol., 129,278,1940; Endocrinology,  
31,419,1942; 37,428,1945;39,43,1946.
- 391.- WELLS, B.B.- Proc. Staff Meet., Mayo Clinic., 15,294,1940.
- 392.- KENDALL, E.C.- Proc. Staff Meet. Mayo Clinic, 15,297,1940.
- 393.- SMELYE, H. y DOBNE, C.- Amer. J. Physiol., 128,729,1940.
- 394.- COREY, E.L., y BRITTON, S.W.- Amer. J. Physiol., 131,783,1941.
- 395.- TRIPTON, S.R.- Amer. J. Physiol., 132,74,1941.
- 396.- INGLE, D.J. y LUKENS, F.D.W.- Endocrinology, 29,443,1941.
- 397.- GRATTAN, J.F., JENSEN, H. e INGLE, D.J.- Amer. J. Physiol.  
134,8,1941.
- 398.- PFIFFNER, J.J.- Advanc. Enzymol., tomo II,325,1942.

- 399.- LONG, C.W.H.- Endocrinology, 30,870,1942.
- 400.- REICHSTEIN, T.- Vitamines-Hormones, 1,345,1943.
- 401.- MACBRIDE, C.M. y LA BALZE, F.A.- J. Clin. Endocrinol.,4,287, 1944.
- 402.- INGLE, D.J., SHEPPARD, R., EVANS, J.S. y KUIZENGA, M.H. Endocrinology, 37,341,1945.
- 403.- INGLE, D.J., WINTER, H.A., LI, C.H. y EVANS, H.M.- Science 101, 671,1945.
- 404.- ABELIN, I.- Helvet. Physiol. et Pharmacol. Acta, 3,71,145; Schweiz. med. wochschr., 75,527,1945.
- 405.- DORTSCH, R.- Helvet. Chim. Acta 28,31,1945.
- 406.- MONTIGEL, C.- Helvet. Chim. Acta 28,42,1945.
- 407.- EVERSOLE, W.J.- Endocrinology, 37,450,1945.
- 408.- SEGALOFF, A.- Endocrinology, 38,26,1946.
- 409.- VENNING, E.H., KAZMIN, V.E. y BELL, J.C.- Endocrinology,38,79 1946.
- 410.- DOREMAN, R.I., ROSS, E., SHIPLEY, R.A., DOREMAN, A.S., BUCHWALD, E., y BIRNBAUM, M.- Endocrinology, 38,178,1946.
- 411.- DOREMAN, R.I., SHIPLEY, R.A., ROSS, E., SCHILLER, S. y HORNITT, E.M.- Endocrinology, 38, 189, 1946.

- 412.- EGGLESTON, N.M., JOHNSTON, B.J. y DOBRINER, R..- Endocrinology  
36,197,1946.
- 413.- CARPENTER, R.K., MACLEOD, L.D. y RYISS, M..- J. Physiol. 105,  
231,1946.
- 414.- FOOLIA, V.G.,- Citado por ANDERSON (301).
- 415.- BENNETT, L.L. y KONKERT,.- Citado por Anderson (301).
- 416.- SOULAIRAC, A.,- Chem. Abst., 42,4656,1948.
- 417.- INGLE, D.J. y NEZAMIS, E.,- Amer. J. Physiol., 152,598,1948.
- 418.- SURTSHIN, A., REDBARD, S. y KATZ, L.N..- Amer. J. Physiol.,  
152,623,1948.
- 419.- GILLHORN, E. y SAFFORD, H.,- Proc. Soc. Exper. Biol. Med.  
68,74,1948.
- 420.- VERZAR, F. y WEDDER, V.,- Biochem. J., 42,35,1948.
- 421.- LONG, C.N.H., KATZIN, E. y FRY, E.G..- Endocrinology 26, 309,  
1940.
- 422.- OLSON, R.E., THAYER, S.A. y KOPP, L.J.,- Endocrinology, 35,  
464,1944.
- 423.- TURCATTI, E.S.,- Citado por LONG, KATZIN y FRY, (423).
- 424.- HARTMAN, F.A. y BROWNELL, K.A.,- Proc. Soc. Exper. Med. Biol.  
31,834,1934.

- 437.- KATZIN, D., LONG, C.N.H..- Amer. J. Physiol. 123,113,1938.
- 438.- LONG, C.N.H., FRY, E.G. y THOMPSON, K.W..- Amer. J. Physiol. 123,130,1938.
- 439.- HOUSSAY, B.A. y LELOIR, J.F..- "Comp. Rend. Soc. Biol. 120, 670,1935.
- 440.- BENNETT, L.L..- Endocrinology, 28,193,1938.
- 441.- De CAMERON, A.T..- Recent advances in Endocrinology, pages. 344. Londres 1947.
- 442.- LI, C.H., SIMPSON, M.E. y EVANS, H.M..- Science, 96,450,1942.
- 443.- LI, C.H., EVANS, H.M. y SIMPSON, M.E..- J. Biol. Chem. 149, 413,1943.
- 444.- LI C.H..- Ann. Rev. Biochemistry XVI, 510 y siguientes, 1947.
- 445.- EVANS, H.M., SIMPSON, M.E. y LI, C.H..- Endocrinology, 33, 327,1943.
- 446.- BECKS, H., SIMPSON, M.E., LI, C.H. y EVANS, H.M..- Endocrinology, 34, 305,1944.
- 447.- BECKS, J., SIMPSON, M.E., MARX, W., LI, C.H. y EVANS, H.M..- Endocrinology, 34, 311, 1944.
- 448.- GORDON, G.S., LI, C.H., y BENNETT, L.L..- Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 62,103,1946.

- 463.- HALL, G.E., DONTIGUY, P., BELAND, E. y SELYE, H.- Endocrinology, 38,297,1946.
- 464.- SELYE, H.- Endocrinology, 39,71,1946.
- 465.- HAY, E.C. y SEGUIN, P.- Amer. J. Physiol. 147,299,1946.
- 466.- SAYERS, G. y SAYERS, M.A.- Endocrinology, 40,265,1947.
- 467.- NIKOLAICHUK, S.P. y RODKINA, B.S.- Chem. Abst., 42,2661,1948.
- 468.- CORI, C.F. y CORI, G.T.- J. Biol. Chem. 85,275,1929.
- 469.- CORI, C.F. y CORI, G.T.- J. Biol. Chem., 94,581,1932.
- 470.- CORI, C.F. y CORI, G.T.- Arch. f. exper. Path. u. Pharmacol., 172,249,1933.
- 471.- BRITTON, S.W., GILLING, E.M.K. y CALVERY, H.- Amer.J.Physiol. 84,141,1928.
- 472.- BROEHA, L., CANNON, W.B. y DILL, D.B.- J. Physiol.,95,431,1939.
- 473.- LONG, C.N.H. y FRY, E.G.- Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 59,67,1945.
- 474.- VOGT, M.- J. Physiol. 103,317,1944.
- 475.- WOLFSON, H.- Amer. J. Physiol. 81,453,1927.

- 476.- YRIART, M..- Comp. Rend. Soc. Biol. 105,128,1930.
- 477.- LONG, C.N.H..- Ann. Int. Med., 9,166,1935.
- 478.- BOHAN, F.O. y LUKENS, F.D.W..- Amer. J. Physiol. 122,367,1938.
- 479.- MARINE.- Citado por SOSKIN, 72,81.
- 480.- JOHN, H.J..- J.A.M.A., 99,620,1932.
- 481.- BODANSKY, A..- Amer. J. Physiol. 69,478,1924.
- 482.- HOUSSAY, B.A..- Semana Médica, 1,255,1944.
- 483.- HOUSSAY, B.A..- Endocrinology,35,158,1944.
- 484.- HOUSSAY, B.A. y SARA, J.G..- Rev. Soc. Argentina Biol. 21,81,  
1945.
- 485.- HOUSSAY, B.A., FOGLIA, V.G., BIAZ, H.P. y SARA, J.G..- Rev.Soc.  
Argentina Biol. 21,232,1945.
- 486.- SOSKIN, S., LEVINE, R. y HELLER, R.E..- Annals J. Physiol.  
125,220,1939.
- 487.- SOSKIN, S. y LEVINE, R..- Arch. Int. Med., 74,375,1944.
- 488.- RABINOWITCH, I.M..- Ann. Int. Med. 4,881,1931.
- 489.- MCBRACKEN, D..- Bull. Johns Hopkins Hosp.,56,145,1935.

- 490.- GREGOIRE, P.E.- Comp. Rend. Soc. Biol. 122,103,1936.
- 491.- MIRSKY, I.A. y BROTH-KAHN, R.H.- Amer. J. Physiol. 117,5,1936.
- 492.- STEINHEIMER, R.- Endocrinology, 25,899,1939.
- 493.- WELLS, B.A. y KENDALL, E.C.- Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic.  
15,493,503, y 565,1940.
- 494.- KLEIN, J.R.- J. Biol. Chem. 131,139,1940.
- 495.- LOEB, L. y BASSETT, R.R.- Proc. Soc. Exper. Biol. Med.  
27,490,1930.
- 496.- JANSEN, S. y LORSER, A.- Arch. Exp. Path. Pharmacol, 163,  
517,1931.
- 497.- JUNKMANN, K. y SCHOELLER, H.- Klin. Wochschr., 11,1176,1932.
- 498.- HERGMAN, A. J. y TURNER, C.W.- Endocrinology, 24,656,1939.
- 499.- FRANKEL-CONRAT, J., FRANKEL-CONRAT, H., SIMPSON, M.E. y  
EVANS, H.M.- J. Biol. Chem., 135,199,1940.
- 500.- FEVOLD, H.L., LEE, M., HISAW, F.L. y COHN, E.J.- Endocrinology,  
26,999,1940.
- 501.- JORGENSEN, M.M. y WADE, N.J.- Endocrinology, 28,406,1941.
- 502.- CIERESZKO, L.S.- J. Biol. Chem. 160,585,1945.



- 503.- WALBO, C.M. y DEMPSEY, E.M.- Endocrinology, 36,286,1945.
- 504.- BARKER, S.B.- Endocrinology, 37,230,1945.
- 505.- RAWSON, R.W., MOORE, E.D., PHACOCK, W., MEANS, J.H., COPE, O. y RIDDHELL, O.B.- J. Clin. Invest., 24,869,1945.
- 506.- DE ROBERTIS, E. y GRASSO, R.- Endocrinology, 38,137,1946.
- 507.- DE ROBERTIS, E. y NOWINSKI, H.W.- J. Clin. Endocrinol. 6,235,1946.
- 508.- FURVES, H.D. y GRIESBACH, W.E.- Endocrinology 39,274,1946.
- 509.- CRABTREE, M.G. y TRIKOJUS, V.M.- Biochem. J., 40,465,1946.
- 510.- BORELL, U. y HOLMGREN, H.- Acta Médica Scandinávica, 123,472, 1946.
- 511.- ALBERT, A., RAWSON, R.W., MERRILL, P., LENNON, B. y RIDDHELL, C. J. Biol. Chem. 166,637,1946.
- 512.- ALBERT, A., RAWSON, R.W. MERRILL, P. LENNON, B. y RIDDHELL, C. Endocrinology, 40,299 y 303,1947.
- 513.- HAGEDORN, H.C. y JENSEN, B.N.- Biochem. Zeitschr.,135.46,1923.
- 514.- SHAFER, R.A.y HARTMANN, A.F.- J. Biol.Chem. 45,365,1921  
SOMOGYI, M.-J.Biol.Chem, 70,599,1926.
- 515.- ECCLETON, M.G. y LOVATT EVANS, C.- J. Physiol. 70,261,1930.

- 516.- BARKER, S.B.- J. Biol. Chem. 152,453,1944.
- 517.- BECHER, E.- Einfache quantitative, Klinisch-Chemische Harn- und Blutuntersuchungs-methoden.- Jena 1934.
- 518.- CASTRO MENDOZA, H. y FERNANDEZ PEREZ, M.- Por publicar.
- 519.- COHEN, E.J., STRONG, L.E., NULFORD, D.I., ASHWORTH, J.N., MELING, M., TAYLOR, H.L.- Amer. J. Chem. Soc., 68, 459, 1946.
- 520.- KIELSCHOWSKY, y CASTRO MENDOZA, H.- Arch. Med. Cir. y Espec. 701,1,1934.
- 521.- CASTRO MENDOZA, H. y MARTINEZ, A.- Por publicar.
- 522.- ARJONA, E., PERIANES, J. y JIMENEZ DIAZ, C.- Rev. Clin. Esp. 31,29,1948.
- 523.- GUGGENHEIM, M. y LOKFLER, W.- Biochem Zeitschr., 72,303,1916.
- 524.- WOLLSCHLIT, W., BOTHE, W., RUSKA, H. y SCHENCK, E.G.- Arch. Exper. Pathol., 177,635,1935.
- 525.- CATALAN, M.A. y GRANDE GOVIAN, F.- Rev. Clin. Esp., 13,217,1944.
- 526.- JUSTIN-BESANCON, L.- Les fonctions internes du rein. Paris 1930.
- 527.- GNOINSKI, H.- Com. Rend. Soc. Biol, 97,942,1927.
- 528.- JIMENEZ DIAZ, C. y CASTRO MENDOZA, H.- Bull. Inst. med. Res. Univ. Madrid, 1,1,1948.

- 529.- MARSHAL, E.H.- *Physiol.Rev.*, 5, 440, 1926.
- 530.- BRULL, L. y KICHHELTZ, F.- *Proc.Royal Soc.* 99, 70, 1925.
- 531.- BRAIN, R.T. y KAY, H.D.- *Biochem. J.* 21, 1104, 1927.
- 532.- KAPLAN, N.O., MEMELSDORFF, I. y DODGE, E.- *J.Biol.Chem.*  
160, 631, 1945.
- 533.- NASH, T.P.- *J.Biol.Chem.*, 51, 171, 1922.
- 534.- JIMENEZ DIAZ, C. y SOUTO CANDEIRA, J.- *Rev.Clin.Exp.*  
27, 335, 1947.  
*Bull.Inst.med.Res.Unive.Madrid*, 1, 77, 1948.
- 535.- REINECKE, R.M. y HAUSER, P.J.- *Amer.J.Physiol.* 153, 205, 1948.
- 536.- WOGGLESWORTH, H.B., WOODROW, C.E., WINTER, L.B. y SMITH, W.  
*J.Physiol.*, 57, 447, 1923
- 537.- HARROP, G.A. y BENEDICT, E.M.- *Proc.Soc.Exper.Biol.Med.*  
20, 430, 1923.
- 538.- PERLZWEIG, W.A., LATHAN, E. y KEEFER, C.S.- *Proc. Soc. exper.*  
*Biol.Med.*, 21, 33, 1923.
- 539.- HARROP, G.A. y BENEDICT, E.M.- *J.Biol.Chem.*, 59, 683, 1924.
- 540.- BLATHERWICK, N.R., BELL, M. y HILL, E.- *Proc.Amer.for Biol.*  
*Chem.*, 61, 241, 1924.

- 209 -

- 541.- RADIE, G.S., MACLEOD, J.J.R. y NOBLE, R.C.- Amer.J.Physiol.  
72, 614, 1925.
- 542.- JIMENEZ DIAZ, C. y SOUTO CANDEIRA, J.- Bull.Inst.Med. Res.  
Univ.Madrid, I, 235, 1946.
-